



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



Yüksek Lisans Tezi

**BALIK PATOJENLERİNE KARŞI BAKTERİYOFAJLARIN
KULLANIMININ ARAŞTIRILMASI**

Fatma KARAÇOBAN

Su Ürünleri Yetiştiriciliği ve Hastalıkları Anabilim Dalı

Su Ürünleri Hastalıkları Programı

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Süheyla KARATAŞ STEINUM**

Kasım, 2019

İSTANBUL

Bu çalışma, 8.11.2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Su Ürünleri Yetiştiriciliği ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Su Ürünleri Hastalıkları Programında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

Prof. Dr. Süheyla KARATAŞ STEINUM(Danışman)
İstanbul Üniversitesi
Su Bilimleri Fakültesi

Doç. Dr. Menekőe Didem DEMİRCAN
İstanbul Üniversitesi
Su Bilimleri Fakültesi

Doç. Dr. Seçil METİN
Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi
Su Ürünleri Fakültesi



20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, İstanbul Üniversitesi’nin aboneli olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Fen Bilimleri Enstitüsü’nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.

Bu tez, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin FYL-2018-30132 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Lisans ve yüksek lisans öğrenimim sırasında her konuda hoşgörüsünü, yardımını, desteğini esirgemeyen bilgi ve tecrübeleriyle eğitim hayatında katkısı olan danışman hocam sayın Prof. Dr. Süheyla KARATAŞ STEINUM'a; elektron mikroskobunda fajların görüntülenmesi ve incelenmesi konusunda yardımlarını esirgemeyen İ.Ü İstanbul Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı sayın Prof. Dr. Seyhun SOLAKOĞLU'na, yüksek lisans yapmam konusunda beni teşvik eden çok değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Metin YAZICI 'ya, tez çalışmamın laboratuvar kısmında her türlü sabrı göstererek bana öğreten ve yardımlarını esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Remziye Eda YARDIMCI, Araş. Gör. Dr. Emre TURGAY, ayrıca benim bugünlere gelmemde her türlü desteğini esirgemeyen değerli aileme ve arkadaşlarıma, özellikle tezimin gerçekleşmesi konusunda her zaman yanımda olan kardeşim Muhterem KARAÇOBAN yardımları için teşekkürü bir borç bilirim.

Kasım 2019

Fatma KARAÇOBAN

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİL LİSTESİ	vii
TABLO LİSTESİ.....	ix
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ	x
ÖZET	xi
SUMMARY	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL KISIMLAR.....	4
2.1. ÜLKEMİZDE KÜLTÜR BALIKÇILIĞI VE KÜLTÜR BALIKLARINDA GÖRÜLEN BAKTERİYEL HASTALIK ETKENLERİ.....	4
2.2. SU ÜRÜNLERİNDE HASTALIKLARDAN KORUNMA VE TEDAVİ.....	9
2.3. BAKTERİYOFAJLARIN TARİHÇESİ VE SINIFLANDIRILMASI.....	15
2.4. BAKTERİYEL BALIK HASTALIKLARINDA BAKTERİYOFAJLARIN KULLANIMI	19
3. MALZEME VE YÖNTEM.....	26
3.1. MALZEME	26
3.1.1. Çalışmada Kullanılan Su Örneklerinin Temini	26
3.1.2. Çalışmada Kullanılan Bakteri Kültürleri ve Lamda Faj.....	27
3.1.3. Çalışmanın Gerçekleştirildiği Kurum ve Kuruluşlar.....	28
3.1.4. Çalışmada Kullanılan Cihazlar	28
3.1.5. Çalışmada Kullanılan Besiyerleri, Kimyasal Maddeler	28
3.2. YÖNTEM.....	29
3.2.1. Çalışmada Kullanılan Bakterilerin Morfolojik ve Biyokimyasal Özelliklerinin Tespiti	29
3.2.2. Bakteriyofajların İzolasyonu	29
3.2.2.1. Örneklerin Toplanması ve Hazırlanması.....	29
3.2.2.2. Faj Zenginleştirme.....	30
3.2.2.3. Çift Tabakalı Dökme Plak Yöntemi ile Faj Varlığının Belirlenmesi	31
3.2.2.4. Faj Morfolojisinin İncelenmesi.....	32

3.2.2.5. <i>İzole edilen Fajların Elekton Mikroskobunda incelenmesi</i>	33
4. BULGULAR	34
4.1. BAKTERİYOLOJİK KÜLTÜR BULGULARI	34
4.2. BAKTERİYOFAJ İZOLASYONU İLE İLGİLİ PLAK ASSAY BULGULAR.....	34
4.3. BAKTERİYOFAJ MORFOLOJİSİ İLE İLGİLİ ELEKTRON MİKROSKOPİ BULGULARI.....	39
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	41
KAYNAKLAR	45
ÖZGEÇMİŞ	59



ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 2.1: Ülkemizde yıllara göre avcılık ve akuakültür üretim miktarları.....	4
Şekil 2.2: Bazı ülkelerde kültür balıkçılığında kullanılan tahmini antibiyotik miktarları (Smith, 2008 modifiye edilerek kullanılmıştır).....	13
Şekil 2.3: Antimikrobiyallerin keşfi ve tarihsel gelişimi.	14
Şekil 2.4: Bakteriyofajların yapısı (Carter ve Saunder,2007).....	17
Şekil 2.5: Temel bakteriyofaj tipleri (Ackermann, 2007).....	17
Şekil 2.6: Fajların yaşam döngüsü (Feiner ve diğ.,2015).....	19
Şekil 2.7: Akuatik çevreden izole edilen bakteriyofajlar (Paul ve Sullivan, 2005).....	20
Şekil 3.1: Örnek toplama ve hazırlama.	26
Şekil 0.2: Örnek toplama ve hazırlama.....	30
Şekil 3.3: Faj zenginleştirme işlemi.	31
Şekil 3.:4 Çift tabakalı agar yönteminde plak oluşumunun incelenmesi.	32
Şekil 3.5: Formvar marka karbon kaplı 300 mesh'lik grid.	33
Şekil 4.1: Çalışmada kullanılan izolatların TSA ve Mueller Hinton Agar besiyerinde üremiş bakteriye ait koloni morfolojisi ve Gram boyamaları (a1,a2) <i>Vibrio</i> <i>anguillarum</i> , (b1,b2) <i>Aeromonas hydrophila</i> , (c1,c2) <i>Aeromonas sobria</i> , (d1,d2) <i>Yersinia ruckeri</i> , (e1,e2) <i>Escherichia coli</i> O157:H7.	36
Şekil 4.2: Kurbağalı Dere/İstanbul suyundan <i>Y. ruckeri</i> suşuna etkili fajın çift tabakalı agarda görüntüsü.	37
Şekil 4.3: Kurbağalı Dere/İstanbul'dan alınan su örneklerinde <i>A. hydrophila</i> suşuna etkili fajın çift tabakalı agarda görüntüsü.	37
Şekil 4.4: Fakültemiz kanalizasyon sisteminden alınan su örneklerinde <i>E. coli</i> suşuna etkili fajın çift tabakalı agarda görüntüsü.....	38
Şekil 4.5: <i>Aeromonas hydrophila</i> 'ya karşı izole edilen fajın elektron mikroskopta görüntüsü.	39
Şekil 4.6: YR11 suşuna tutunmuş farklı kuyruk tiplerine sahip fajlar x150.000.....	39

Şekil 4.7: *E. coli* O157:H7'ye karşı izole edilen fajın elektron mikroskopta görüntüsü.40

Şekil 4.8: *E. coli* 392 (ATCC 40236) ye karşı pozitif kontrol olarak kullanılan “λ” lambda fajın elektron mikroskopta görüntüsü x100.000.....40



TABLO LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 2.1: Ülkemiz kültür balıklarında görülen bakteriyel hastalıklar ve etkenleri.....	5
Tablo 2.2: Kültür balıkçılığında kullanılan ticari aşılar.	10
Tablo 2.3: Bakteriyofaj kullanımının avantaj ve dezavantajları (Madhusudana ve Lalitha, 2015).....	21
Tablo 2.4: Akuakültürde bakteriyofaj çalışmaları (Richard, 2014 ve Letchumanan ve diğ. 2016 modifiye edilerek hazırlanmıştır).....	22
Tablo 3.1: Çalışmada kullanılan izolatlar.....	27
Tablo 4.1: Çalışmada kullanılan bakterilerin morfolojik ve biyokimyasal özellikleri.....	35
Tablo 4.2: Faj izolasyonu yapılan su örneklerine ait bulgular.	38

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
g	: Gram
l	: Litre
ml	: Mililitre
µl	: Mikrolitre
°C	: Derece Santigrat
%	: Yüzde
λ	: Lambda
µm	: Mikrometre

Kısaltmalar	Açıklama
MAS	: Motile Aeromonas Septisemi
FMS	: Fry Mortalite Sendromu
BGD	: Bakteriyel Solungaç Hastalığı
TSA	: Trypticase Soy Agar
LB	: Luria Bertani Broth
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
RNA	: Ribonükleik Asit
PFU	: Plak Forming Unit
CFU	: Colony Forming Unit

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BALIK PATOJENLERİNE KARŞI BAKTERİYOFAJLARIN KULLANIMININ ARAŞTIRILMASI

Fatma KARAÇOBAN

İstanbul Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Su Ürünleri Yetiştiriciliği ve Hastalıkları Anabilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. Süheyla KARATAŞ STEINUM

Antibiyotik direncinin ortaya çıkması sonucu kültür balıkçılığında daha önce kolaylıkla tedavi edilen hastalıklar ile mücadele zorlaşmış hatta imkânsız hale gelmiştir. Bu nedenle bu tez çalışmasında; antimikrobiyal kemoterapiye alternatif olarak kullanılabilen, balık patojenlerine karşı etkili ve doğal savaş için bakteriyofaj izolasyonu ve identifikasyonunun yanı sıra bakteriyofajların akuakültürde kullanımı araştırılmıştır. Bu çalışmada, farklı kaynaklardan alınan su örneklerinden çeşitli balık patojenlerine karşı faj izolasyonu ve faj zenginleştirme çalışmaları yürütülmüş ve Kurbağalıdere/İstanbul'dan alınan su örneklerinden *Aeromonas hydrophila* ve *Yersina ruckeri*'ye; Adana Irmağı/Mersin'den alınan su örneklerinden *Yersina ruckeri*'ye; fakültemiz kanalizasyon sisteminden alınan su örneğinden ise *Escherichia coli* O-157:H7 suşuna karşı faj izolasyonu gerçekleştirilmiştir. İzole edilen fajlar, Geçirmeli Elektron Mikroskopu (TEM) ile görüntülenmiştir. Üç farklı ticari kuluçkahaneden alınan su örneklerinden ise balık patojenlerine karşı faj izole edilememiştir.

Kasım 2019, 70. sayfa.

Anahtar kelimeler: Bakteriyofaj, antibiyotik, balık patojeni, faj tedavisi

SUMMARY

M.Sc. THESIS

INVESTIGATION OF THE USE OF BACTERIOPHAGES AGAINST FISH PATHOGENS

Fatma KARAÇOBAN

İstanbul University

Institute of Graduate Studies in Sciences

Department of Aquaculture and Fish Diseases

Supervisor : Prof. Dr. Süheyla KARATAŞ STEINUM

As a result of the emergence of antibiotic resistance, it has become difficult and even impossible to combat previously easily-treated diseases in aquaculture. Therefore, in this thesis; in addition to bacteriophage isolation and identification for effective and natural control against fish pathogens, the use of bacteriophages which can be used as an alternative to antimicrobial chemotherapy in aquaculture has been investigated. In this study, phage isolation and phage enrichment studies were conducted against various fish pathogens from water samples taken from different sources and *Aeromonas hydrophila* and *Yersina ruckeri*, which were obtained from Kurbağalıdere/İstanbul; *Yersina ruckeri*, one of the water samples taken from Adana River/Mersin; phage isolation was performed against *Escherichia coli* O-157:H7 strain from the water sample taken from the faculty sewer system. Isolated phages were visualized by Transmission Electron Microscopy (TEM). Phage could not be isolated from water samples taken from three different commercial hatcheries against fish pathogens.

November 2019, 70 pages.

Keywords: Bacteriophage, antibiotics, fish pathogen, phage therapy

1. GİRİŞ

Dünya genelinde nüfusun ve beslenme sorunlarının arttığı günümüzde önemli bir protein kaynağı haline gelen su ürünlerinin önemi giderek artmıştır ve artan bu üretimle birlikte bu kaynakları korumak, sürekliliğini sağlamak gerekmiştir. Bunun sonucunda su ürünleri yetiştiricilik yoluyla gelişmiş ve en hızlı büyüyen sektörler arasında yer almıştır (Türel, 2002; Cabello, 2006; Subasinghe ve diğ., 2009).

Su ürünlerinin yıllara göre gelişimi ve değişimi incelendiği zaman üretim miktarında artış gözlenmiştir ve artan bu üretim beraberinde yem, çevre, pazar, teknoloji, iş gücü ve mevzuatdır. En önemlisi ise hastalık sorunudur (Akgün, 2004; Candan ve Karataş 2010).

Balıklar diğer canlılara oranla çevre koşullarına daha fazla duyarlıdır ve yaşadıkları ortamdaki suyun fiziksel, kimyasal, biyolojik özelliklerinin bozulmasından çok fazla etkilenirler. Ayrıca yetiştiriciliğin yapıldığı yerlerde stok yoğunluğunun artması, suların ısınması, kirlenmesi ve oksijen seviyenin düşmesine bağlı olarak balıklarda stres oluşmaktadır. Balıkların boylanırken elle müdahale edilmesi, taşınması, sayılması gibi nedenler ve ortamda bulunan fırsatçı patojenlerin varlığına bağlı olarak enfeksiyonlar ortaya çıkmıştır. Çevresel kaynakların hastalıklar üzerine etkisi kültür balıklarında, doğada yetişen balıklara oranla daha fazladır (Barton ve Iwama, 1991; Middelboe ve diğ., 2008; Candan ve Karataş, 2010; Dallaire-Dufresne ve diğ., 2014).

Su ürünleri sektörü bakteriyel ve viral enfeksiyonların neden olduğu hastalıklar nedeniyle ölüm oranların da ciddi bir artış ve büyük ekonomik kayıplar yaşamaktadır ve bu kayıpları azaltabilmek için uygun terapötikler kullanılmaktadır (Wise ve Johnson, 1998; Samanidou ve Evaggelopoulou, 2007; Diana ve diğ., 2013). Antibiyotikler, bakteriyel hastalıkları kontrol altına almak için etkili terapötik ajanlar olarak kabul edilmiş, bununla birlikte, sık kullanımına bağlı olarak antibiyotik direnci oluşmasına ve yaygınlaşmasına neden olmuştur (Candan ve Karataş, 2010). Özellikle antibiyotiklere karşı bakteriyel direnç, her gün ve neredeyse her yerde görülen bir durumdur (<http://www.who.int>). Antibiyotiklerin, direnç geliştirmesiyle hastalıkların tedavi süreleri uzamakta, maliyet miktarı artmaktadır ve ciddi kayıplar meydana gelmektedir (Candan ve Karataş, 2010; Aksit, 2016). Bir ilacın gelişimi yavaş bir süreçtir ve son yıllarda az sayıda antibiyotik piyasaya sürülmüştür. Dünya Sağlık Örgütü (WHO, 2014)

gözlem raporunda yeni bir 'antibiyotik öncesi çağ'ın başlayabileceğini ve bu nedenle yenilikçi, çevreyle dost yöntemlerin araştırılması ve geliştirilmesinin teşvik edilmesi gerektiğini belirtmiştir (<http://www.who.int>).

Bakteriyel antibiyotik direncine ilişkin farkındalık son yıllarda artmakta ve dünya çapında çeşitli önlemler alınmaktadır. 2003 yılında Avrupa Birliği hayvanlarda büyüme amaçlı antibiyotik kullanımını yasaklamıştır ve ülkemizde de Sağlık Bakanlığı 2014-2017 yıllarını kapsayan “Akılcı İlaç Kullanımı Ulusal Eylem Planı”nı başlatmıştır. İlacın üretiminden atığının imhasına kadar geçen süreci kapsamaktadır ve hasta, doktor, üretici ve personelin eğitilmesini, enfeksiyonların daha erken ve etkili bir şekilde tedavisi için direnç profilleri hakkında daha iyi bir veri toplanmasını, yeni antibiyotiklerin bulunması, hızlı tanı yöntemlerinin ve diğer alternatif metotların geliştirilmesi için kaynak sağlanması hedeflenmiştir (TÜBA, 2017).

Alternatif anti-enfeksiyon yöntemlerin geliştirilmesi, modern tıbbın ve biyoteknolojinin önceliklerinden biri olmuştur. Antibiyotik direncinin ortaya çıkması sonucu, kültür balıkçılığında daha önce kolaylıkla tedavi edilen hastalıklar ile mücadele gittikçe zorlaşmış hatta imkânsız hale gelmiştir. Bu nedenle antibiyotiklerin etkilerini azaltabilmek için çeşitli çalışmalar başlatılmıştır (Merabishvili ve diğ., 2009; Weber-Dabrowska ve diğ., 2016; Sarker ve diğ., 2016). Balıklardan hastalık etkeni olarak izole edilmiş bakterilere karşı etkili, çevre dostu ve antibiyotiğe dirençli bakteriyel enfeksiyonları kontrol etmek için bilimsel olarak kanıtlanabilir bir çözüm olan bakteriyofaj tedavisi sahip oldukları doğal özellikleri nedeni ile antibiyotiklere alternatif olarak düşünülmüştür.

Antibiyotiklere alternatif olan bakteriyofajlar daha güvenli olarak kabul edilmiştir. Üretimleri ve izalasyonları kolay, normal flora üzerinde herhangi bir etkileri yok, uygulamaları daha kolay, daha ucuzdur, bakteriler dışındaki canlılara karşı zararsız ve faj antibiyotik ve dezenfektanlara beraber kullanıldıkları zaman karşılıklı olarak birbirlerinin etkilerini artırıcı özellik göstermektedir (Sulakvelidze ve diğ., 2001).

Su ürünlerinde bakteriyofaj ve faj tedavi ile ilgili çalışmalar yok denecek kadar az olup, günümüze kadar *Edwardsiella tarda*, *E. ictaluri*, *Lactococcus garvieae*, *Pseudomonas plecoglossicida*, *Streptococcus iniae*, *Flavobacterium columnare*, *F. psychrophilum*, *Aeromonas salmonicida*, *A. hydrophila* ve çeşitli *Vibrio* türleri gibi bakteriyel balık patojenlerine karşı bakteriyofajlar bilimsel olarak izole edilmiştir (Wu ve Chao 1981; Nakai ve diğ., 1999; Nakai ve Park, 2002; Karunasagar ve diğ., 2005; Higuera ve diğ., 2013). Yıldızlı

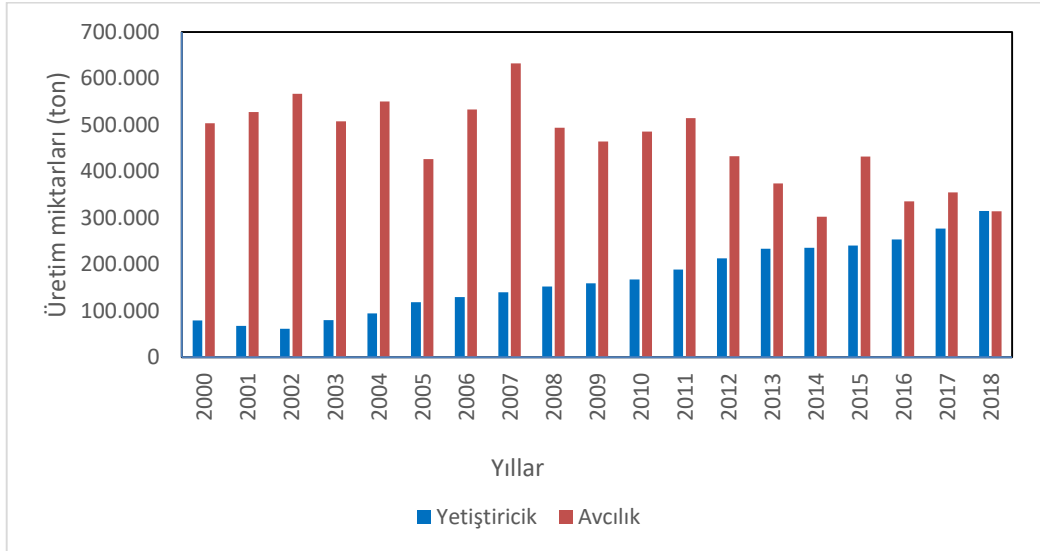
(2015), yurdumuzda ise *Vibrio anguillarum* patojenine karşı hasta levrek balığı dokularından faj izolasyon ve identifikasyonu üzerine sadece bir tez çalışması bulunmaktadır.

Bu çalışmada balık patojenlerine karşı bakteriyofajların kullanımının araştırılması ile balık hastalıklarının da antibiyotik kullanımının azaltılmaası ve hastalık çıkışlarında yüksek mortalitenin önüne geçilmesini sağlayacak alternatif bir tedavi yöntemi ortaya çıkarılacaktır. Antimikrobiyal kemoterapiye alternatif olarak ülkemizde balıklarda hastalık oluşturan patojen bakterilere karşı bakteriyofajların izole edilmesi, kullanımının araştırılması bu tezin amacını oluşturmaktadır. Bu amaç doğrultusunda daha önceden deniz ve tatlısu balıklarından izole edilen ve laboratuvarımızda uygun koşullarda saklanan çeşitli balık patojenlerine (*A. hydrophila*, *A. sobria*, *Y. ruckeri*, *V. anguillarum* gibi) karşı etkili bakteriyofaj üretimi çalışmada yapılmıştır.

2. GENEL KISIMLAR

2.1. ÜLKEMİZDE KÜLTÜR BALIKÇILIĞI VE KÜLTÜR BALIKLARINDA GÖRÜLEN BAKTERİYEL HASTALIK ETKENLERİ

Ülkemizde akuakültür 1970’li yıllarda Almanya’dan getirilen gözlü gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) yumurtaları ile 1980’li yıllarda ise deniz balığı yetiştiriciliği çalışmaları ile başlanmıştır. Dünya akuakültür üretiminin yıllara göre değişimi incelendiğinde ise 1980’li yıllardan günümüze kadar olan süreçte üretim miktarının devamlı arttığı görülmektedir. Ülkemizde akuakültür üretim miktarının global üretim artışına oranla çok daha hızlı arttığı bilinmektedir. 1986 yılında 3.075 ton olan üretim, 2018 yılında 314,537 tona yükselmiştir (TUİK, 2018). Ülkemizde yıllara göre akuakültür üretim ve avcılık miktarları şekil 2.1’de verilmiştir. Grafikte görüldüğü gibi yetiştiricilik miktarı, avcılık miktarı hemen hemen aynıdır. İlerleyen yıllarda ülkemizde yetiştiricilik miktarı ile üretilen balığın avcılık ile temin edilen balık miktarından daha fazla olacağı öngörülmektedir. Denizlerde ve iç sularda bilinçsiz avcılık, doğal stokların azalması, aşırı avcılık, bazı türlerin neslinin yok olması ve suların kirlenmesine avcılık yoluyla gelen üretimi etkileyen en önemli sebepler olarak karşımıza çıkmaktadır (BSGM, 2016; FAO, 2016).



Şekil 2.1: Ülkemizde yıllara göre avcılık ve akuakültür üretim miktarları (TUİK, 2018)

Ülkemizde gökkuşağı alabalığı ile başlayan ve günümüzde başta çipura (*Sparus aurata*), levrek (*Dicentrarchus labrax*) ve diğer alabalık türleri olmak üzere kırma mercan (*Pagrus pagrus*), fangri mercan (*Pagrus major*), antenli mercan (*Pagrus caeruleostictus*), sinarit (*Dentex dentex*), sivriburun karagöz (*Diplodus puntazzo*), granyöz (*Argyrosomus regius*), minekop (*Umbrina cirrosa*), orkinos (*Thunnus thynnus*), tilapya (*Oreochromis niloticus*), yayın (*Silurus glanis*), aynalı sazan (*Cyprinus carpio*) ve mersin balığını (*Acipenser gueldenstaedtii*) içeren ondan fazla türün yetiştiriciliği yapılmaktadır.

Ülkemizde her geçen yıl gelişen kültür balıkçılığın ile birlikte hastalık problemleride artmaya başlamıştır. Bu hastalık problemlerin büyük bir kısmını ise bakteriyel hastalık etkenleri oluşturmuştur. Ülkemiz de kültür balıklarında görülen bakteriyel hastalıklar ve etkenleri Tablo 2.1’de verilmiştir. Ayrıca tabloda ülkemiz kültür balıklarında hastalığa ve ekonomik kayıplara neden olan bakterilerin geniş bir kısmı fırsatçı patojenlerden oluştuğu ve çok azının da zoonoza neden olduğu gözlenmektedir.

Tablo 2.1: Ülkemiz kültür balıklarında görülen bakteriyel hastalıklar ve etkenleri

Balık Türü	Hastalık Türü	Hastalık Etkeni	Kaynak
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	MAS	<i>Aeromonas hydrophila</i>	Baran ve diğ., 1980
		<i>A. sobria</i>	Özkök, 2005
		<i>A. caviae</i>	Kayış ve diğ., 2009
		<i>A. schubertii</i>	Akaylı ve diğ., 2011
	Yersiniosis	<i>Yersinia ruckeri</i>	Timur ve Timur, 1991b
	Frunkulosis	<i>A. salmonicida</i> subsp. <i>salmonicida</i>	Timur ve diğ., 1999
		<i>A. salmonicida</i> subsp. <i>achromogenes</i>	Korun ve Timur, 2001
	FMS	<i>Flavobacterium psychrophilum</i>	Korun ve Timur, 2001
	Staphylococcosis	<i>S. aerous</i>	Timur ve Akaylı, 2003
		<i>S. epidermis</i>	Timur ve Akaylı, 2003
		<i>S. hominis</i> subsp. <i>hominis</i>	Turgay ve diğ., 2015
		<i>S. cohnii</i> subsp. <i>cohnii</i>	Akaylı ve diğ., 2011
	BGD	<i>F. johnsoniae</i>	Yıldırım ve Özer, 2010
		<i>F. brachiophilum</i>	Yıldırım ve Özer, 2010
		<i>F. saccharophilum</i>	Yıldırım ve Özer, 2010
		<i>F. aquatile</i>	Yıldırım ve Özer, 2010
<i>Chryseobacterium balustinum</i>		Karataş ve diğ., 2018	

	Vibriosis	<i>V. anguillarum</i>	Akşit ve Kum, 2008
		<i>V. alginolyticus</i>	Savaş ve diğ., 2006
		<i>V. parahaemolyticus</i>	Aydın, 2000a
	Lactococcosis	<i>Lactococcus garviae</i>	Diler ve diğ., 2002
	Edwardsiellosis	<i>Edwardsiella ictaluri</i>	Keskin ve diğ., 2004
	Columnaris	<i>Flavobacterium columnare</i>	Kubilay ve diğ., 2008
	Vagococcosis	<i>Vagococcus salmoninarum</i>	Didinen ve diğ., 2011
	Micrococcosis	<i>Micrococcus luteus</i>	Aydın ve diğ., 2005
	Pseudomonas Enfeksiyonları	<i>Pseudomonas sp.</i>	Aydın ve diğ., 2005
		<i>P. fluorescens</i>	Akaylı ve Timur, 2004
		<i>P. putida</i>	Ozkok, 2005
<i>P.aeroginasa</i>		Kayış ve diğ., 2009	
<i>P. lutoeola</i>		Altınok ve diğ., 2007	
	<i>P. plecoglossicida</i>	Akaylı ve diğ., 2011	
<i>Sparus aurata</i>	Vibriosis	<i>V. anguillarum</i>	Candan, 1993
		<i>V. alginolyticus</i>	Çağırğan, 1993a
		<i>V. vulnificus</i>	Türk, 2002
		<i>V. ordalii</i>	Candan, 1993
		<i>V.damsella</i>	Akaylı, 2001
	MAS	<i>A. hydrophila</i>	Türk, 2002
		<i>A. sobria</i>	Avsever ve diğ., 2012
	Photobacteriosis	<i>Photobacterium damsella</i> subsp. <i>piscicida</i>	Çağırğan, 1993b
	Streptococcosis	<i>Streptococcus sp.</i>	Akaylı ve diğ., 2009
	Staphylococcosis	<i>S. epidermidis</i>	Kubilay ve Uluköy, 2004
	Pseudomonas Enfeksiyonları	<i>P. fluorescens</i>	Türk, 2002
		<i>P. anguillaseptica</i>	Çanak ve Akaylı, 2018
	Tenacibaculosis	<i>T. maritimum</i>	Türk, 2002
Mycobacteriosis	<i>Mycobacterium frederiksbergense</i>	Ürkü ve diğ., 2018	
<i>Dicentrarchus labrax</i>	Vibriosis	<i>V. anguillarum</i>	Çağırğan ve Yürekli Türk, 1996
		<i>V. ordalii</i>	Korun, 2004a
		<i>V. vulnificus</i>	Türk, 2002
		<i>V. harveyi</i>	Korun, 2004
		<i>V. alginolyticus</i>	Çağırğan, 1993a
	Yersiniosis	<i>Y. ruckeri</i>	Savaş ve Türe, 2007
	Photobacteriosis	<i>P. damsella</i> subsp. <i>piscicida</i>	Candan, 1993
	MAS	<i>A. hydrophila</i>	Şahrikoğlu ve Candan, 2002
		<i>A. sobria</i>	Avsever ve diğ., 2012
	Frunkulosis	<i>A. salmonicida</i> subsp. <i>achromogenes</i>	Karataş ve diğ., 2005
	Staphylococcosis	<i>S. epidermidis</i>	Türk, 2002
	Pseudomonas Enfeksiyonları	<i>P. fluorescens</i>	Türk, 2002
		<i>P. anguillaseptica</i>	Türk, 2002
		<i>P. chlororaphis</i>	Türk, 2002
		<i>P. putida</i>	Matyar, 2007
Tenacibaculosis	<i>T. maritimum</i>	Yardımcı ve Timur, 2015	

	Mycobacteriosis	<i>M. marinum</i>	Korun ve diğ., 2005
	Rickettsiosis	<i>Rickettsia- benzeri organizma</i>	Timur ve diğ., 2005 Timur ve diğ., 2013
<i>Dentex dentex</i>	Vibriosis	<i>V. harveyi</i>	Turgay ve Karataş, 2016
		<i>V. splendidus</i>	Akaylı ve diğ., 2015
		<i>V. pelagius</i>	Akaylı ve diğ., 2015
	Micrococcosis	<i>M. luteus</i>	Akaylı ve diğ., 2019
	Streptococcosis	<i>Streptococcus sp.</i>	Akaylı ve diğ., 2015
	Staphylococcosis	<i>S. cohnii</i> subsp. <i>cohnii</i>	Akaylı ve diğ., 2011
<i>Pagrus pagrus</i>	Vibriosis	<i>V. anguillarum</i>	Korun ve Gökoğlu, 2007a
<i>Argyrosomus regius</i>	Mycobacteriosis	<i>M. marinum</i>	Timur ve diğ., 2015
<i>Acipenser gueldenstaedtii</i>	BGD	<i>F. johnsoniae</i>	Karataş ve diğ., 2010
		<i>F. hydatis</i>	Timur ve diğ., 2010
<i>Cyprinus carpio</i>	BGD	<i>Chryseobacterium sp.</i>	Didinen ve diğ., 2016

Ülkemizde yetiştiriciliği yapılan gökkuşağı alabalıklarında ilk rapor edilen hastalık hareketli *Aeromonas septisemisi* (Baran ve diğ., 1980), olup ardından 1990 yılında ise yetiştiriciliği yapılan gökkuşağı alabalığı frylarında yersiniosis bildirilmiştir (Timur ve Timur, 1991). 1999 yılında furunkulosis (Timur ve diğ., 1999) hastalığı yanı sıra *F. psychrophilum* etkeni olduğu FMS, *S. aerous* ve *S. epidermis* etkeni olduğu staphylococcosis yine gökkuşağı alabalığı frylarında tanımlanmıştır (Timur ve Akaylı, 2003). Daha sonra, *L. garviae*'nin etken olduğu lactococcosis Diler ve diğ., (2002) tarafından ; *P. fluorescens* 'nin etken olduğu Pseudomonad enfeksiyonu Akaylı ve Timur tarafından 2004 yılında bildirilmiştir. Vibriosis (Timur ve Korun, 2004), edwardsiellosis (Keskin ve diğ., 2004), staphylococcosis (Turgay ve diğ., 2010) ve kolumnaris (Kubilay ve diğ., 2008) gibi bakteriyel hastalıkların görüldüğüne dair raporlar mevcut olup son dönemlerde *V. salmoninarum* etkeni olduğu vagicocosis (Didinen ve diğ., 2011), *Chryseobacterium* türlerinin etkeni olduğu bakteriyel solungaç hastalığı *Cyprinus carpio* (sazan) ve gökkuşağı alabalıklarında tanımlanmıştır (Didinen ve diğ., 2016; Karataş ve diğ., 2018).

Ege kıyılarındaki işletmelerde yetiştiriciliği yapılan çipura balıklarında ülkemizde ilk olarak vibriosis (Candan, 1993) bildirilmiştir. *V. anguillarum* yanı sıra vibriosis etkeni olarak *V. ordalii*, *V. vulnificus*, *V. alginolyticus* ve *V. damsela* kültür çipura balıklarındaki hastalık olgularından izole edilmiştir (Candan, 1993; Akaylı, 2001; Avsever ve diğ., 2012). *S. epidermidis*'in neden olduğu staphylococcosis (Kubilay ve Uluköy, 2004), *T. maritimum*'un

neden olduğu tenacibaculosis (Türk, 2002) ve *P. fluorescens* ve *P. anguillaseptica*'nın neden olduğu Pseudomonas enfeksiyonları tanımlanmıştır (Türk, 2002; Çanak ve Akaylı, 2018). Bu çalışmaların yanı sıra *Flavobacterium sp.* (Akaylı ve diğ., 2009); ve son olarak Ürkü ve diğ. (2018) tarafından *M. frederiksbergense*'in etkeni olduğu mycobacteriosis çipura balıklarında tanımlanmıştır.

Ülkemiz kültür levrek balıklarında ilk olarak *V. alginolyticus* (Çağırğan 1993) ve *V. anguillarum* etken olduğu vibriosis tanımlanmış (Çağırğan ve Yüreklitürk 1996) olup günümüze kadar *V. vulnificus* (Türk, 2002), *V. ordalii* (Korun, 2004a) gibi *Vibrio* türleri vibriosis etkeni olarak tanımlanmıştır. Pasteurollosis ise *Ichthyophonus hoferi* ile birlikte karma enfeksiyon şeklinde Timur ve diğ. (1996) tarafından bildirilmiştir. Kültür levrek balıklarında (Korun ve diğ., 2005) viseral organlarının histolojik kesitlerinde ilk olarak karakteristik granulomalar içinde asit fast boyalarla boyanan çomak şekilli *M. marinum*'un etken olduğu mycobacteriosis 2005 yılında tanımlanmıştır (Korun ve diğ., 2005). Aynı zamanda bir diğer asit fast boyanma özelliği ve hücre içi paraziti olan *Rickettsia*-benzeri organizma ilk olarak levrek balıklarında *Listonella (Vibrio) anguillarum* veya *P. damsela* subsp. *piscicida* birlikte bildirilmiştir (Timur ve diğ., 2005). *A. hydrophila* (Şahrikoğlu ve Candan, 2002), atipik *Aeromonas* enfeksiyonuna neden olan *A. salmonicida* subsp. *achromogenes* (Karataş ve ark., 2005), *T. maritimum* (Türk, 2006), *Y. ruckeri* (Savaş ve Türe 2007) ve *Shewanella putrefaciens* (Korun ve diğ., 2009) gibi bakteriyel hastalık etkenleri levrek balıklarında bildirilen diğer patojenlerdir.

Yetiştiriciliği yapılan alternatif türlerden olan sinarit balıklarında Turgay ve Karataş (2016) tarafından *V. harveyi*'nin etken olduğu vibriosis tanımlanmıştır. Diğer *vibrio* türlerinden *V. pelagius* ve *V. splendidus* (Akaylı ve diğ., 2019) ; *M. luteus* (Akaylı ve diğ., 2019), *S. cohnii* subsp. *cohnii* (Akaylı ve diğ. 2011) hastalık etkeni olarak sinarit balıklarında günümüze kadar rapor edilmiştir. Alternatif türlerin yetiştiriciliklerinin artması, lesepsiyen ve istilacı türlerin sularımıza girmesi, küresel ısınma, fizyolojik ve kimyasal stresörler ve daha birçok biyotik ve abiyotik faktörün devrede olması gün geçtikçe işletmelerde ortaya çıkan hastalıkları ve etken çeşitliliğini de değiştirmeye devam edecektir.

2.2. SU ÜRÜNLERİNDE HASTALIKLARDAN KORUNMA VE TEDAVİ

Diğer canlılarda olduğu gibi balıkların da sağlığı çevresel parametrelere bağlıdır. Hatta poikiloterm canlılar oldukları için karasal hayvanlardan daha fazla çevrelerinde olup bitenden etkilenirler. Bu nedenle çevresel parametrelerin takip edilmesi ve mümkün olduğunca kontrol altında tutulması önemlidir. Hastalıklardan korunmada biyogüvenlik çok önemli rol oynamaktadır. Biyogüvenlik, etkili hastalık kontrolü ve acil durum yönetimini içerir. Su ürünleri yetiştiriciliğinin yapıldığı işletmelerde hayvan hareketleri, dezenfeksiyon, sağlıklı hasat, risk analizi gibi önlemlerin uygulanması gerekmektedir. Ayrıca balık hastalıklarından korunmak ve tedavi etmek için aşılar, probiyotikler ve immunostimulantlar kullanılmaktadır (Candan ve Karataş, 2010).

Aşılar hastalıklardan korunmak amacı ile kültür balıkçılığında 1990'lı yıllardan buyana kullanılmaktadır. Ancak hala bazı hastalıklara karşı aşı üretilmemiş olması, üretilenlerin yeterince etkili olmaması, etki sürelerinin kısıtlı olması, aşı yapımında kullanılan bakteri şuşlarında farklılıkların bulunması nedenleri ile aşı üretim çalışılması ve geliştirilmesi gereken bir konudur. Kültürü yapılan pek çok balık türü için bazı hastalıklara karşı etkili aşılar bulunmaktadır. Ticari olarak üretilmiş çok az sayıda viral aşı bulunmakta ve herhangi bir parazit için aşı bulunmamaktadır. Kültür balıkçılığında kullanılan aşılar Tablo 2.2'de verilmiştir (Sommerset ve diğ., 2005, Dadar ve diğ., 2017) .

Tablo 2.2: Kùltür balıkçılığında kullanılan ticari aşılar

Hastalık	Etken	Balık türü
Vibriozis	<i>V. anguillarum</i>	<i>Dicentrarchus labrax</i> <i>Sparus aurata</i> <i>Seriola dumerili</i> <i>Gadus morhua</i>
Soğuk su vibriozisi	<i>V. salmonicida subsp. salmonicida</i>	<i>Salmo salar</i>
Kış ülseri	<i>Moritella viscosa</i>	<i>S. salar</i>
Furunkulozis	<i>A. salmonicida</i>	Salmonidler
Yersiniozis (ERM)	<i>Y. ruckeri</i>	<i>S. salar</i> <i>Oncorhynchus mykiss</i>
Piskirikettsiozis (SRS)	<i>Piscirickettsia salmonis</i>	<i>S. salar</i>
Flavobakteriozis	<i>F. psychrophilum</i>	<i>S. salar</i>
Kolumnaris	<i>F. columnare</i>	<i>Ictalurus punctatus</i>
Enterik yayın balığı Septisemisi	<i>E. ictaluri</i>	<i>I. punctatus</i>
Bakteriyel böbrek hastalığı	<i>Renibacterium salmoninarum</i>	Salmonidler
Laktokozis	<i>L. garvieae</i>	<i>O. mykiss</i> , <i>Seriola dumerili</i>
Pastörellozis	<i>P. damsela supsp. piscicida</i>	<i>D. labrax</i> <i>S. aurata</i>
Streptokokkozis	<i>S. iniae</i>	<i>Oreochromis niloticus</i>
İnfeksiyöz Pankreatik Nekrozis (IPN)+Flavobakteriozis	<i>F. psychrophilum</i> IPN Virüsü	<i>S. salar</i>
Flavobakteriozis+ IPN+SRS	<i>F. psychrophilum</i> IPN Virüsü <i>P. salmonis</i>	<i>S. salar</i>
Furunkulozis+Vibriozis+IPN+ ISA+SRS	<i>A. salmonicida</i> IPN Virüsü <i>P. salmonis</i> <i>V. ordalii</i> ISA Virüsü	<i>S. salar</i>
İnfeksiyöz Somon Anemisi (ISA)	ISA Virüsü	<i>S. salar</i>
Furunkulozis+Vibriozis+Soğuk su Vibriozisi+Kış ülseri+IPN	<i>A. salmonicida subsp. salmonicida</i> <i>V. anguillarum</i> <i>V. salmonicida</i> <i>M. viscosa</i> IPN Virüsü	<i>S. salar</i>
Salmon pankreas hastalığı	<i>Salmon pancreas disease virus</i> (SPDV)	<i>S. salar</i>
Furunkulozis+Vibriozis+Soğuk su Vibriozisi+ kış ülseri+ IPN+ISA	<i>A. salmonicida subsp. salmonicida</i> <i>V. anguillarum</i> <i>V. salmonicida</i>	<i>S. salar</i>

	<i>M. viscosa</i> IPN Virüsü ISA Virüsü	
Furunkulozis+Vibriozis+IPN+SRS	<i>A. salmonicida</i> <i>V. ordalii</i> IPN Virüsü <i>P. salmonis</i>	<i>S. salar</i>
IPN+SRS	IPN Virüsü <i>P. salmonis</i>	<i>S. salar</i> <i>O. kisutch</i> <i>O. mykiss</i>
Vibriozis+IPN+SRS	<i>V. ordalii</i> IPN Virüsü <i>P. salmonis</i>	<i>S. salar</i>
Viral nervoz nekrozis (VNN)	Noda Virüs	<i>D. labrax</i>
Vibriozis+ Pastörellozis	<i>V. anguillarum</i> <i>P. damsela</i> subsp. <i>piscicida</i>	<i>D. labrax</i>
<i>Aeromonas veronii</i> enfeksiyonu	<i>Aeromonas veronii</i>	<i>D. labrax</i>
Furunkulozis+Vibriozis	<i>A. salmonicida</i> subsp. <i>salmonicida</i> <i>V. anguillarum</i>	<i>S. salar</i>
Furunkulozis+IPN	<i>A. salmonicida</i> subsp. <i>salmonicida</i> IPN Virüsü	<i>S. salar</i>
Streptokokkozis	<i>S. agalactiae</i>	<i>O. niloticus</i>

İmmünostimulantlar, tek başına kullanıldıklarında spesifik olmayan bağışıklık sistemini uyaran ve bir antijenle bereber uygulandığında spesifik savunma mekanizmasını uyaran ajanlar olarak tanımlanmıştır. Genel olarak biyolojik cevap değiştirici maddeler olarak bilinen immunostimulantlar, immun sistemi baskılayan ve uyaran maddeler olarak tanımlanmışlardır. İmmünostimulantlar, kültür balıkçılığında bakteriyel, fungal, paraziter ve viral hastalıkların tedavisinde kullanılmaya başlamıştır. Spesifik olmayan savunma mekanizmasını artırarak kayıpları azaltmak için hastalık çıkış dönemlerinden önce immünostimulantlar kullanılmaktadır. Hayvanlarda ilk kez kullanılan immunostimulant Complete Freund's Adjuvanı (CFA) dır. Günümüze kadar kabuklu ve balıklarda birçok sentetik ve biyolojik madde (levamisole, EF 203, glukan, Vit C + Vit E, glukan + vitamin C, laminaran, vitaSim, lentinan, scleroglukan, schizophyllan, poliglukoz, glukan (sigma), lipopolisakkarit, büyüme hormonu, FK 565, kitin, kitosan, FCA gibi) immunostimulant olarak denenmiş ve kullanılmıştır (Candan ve Karataş, 2010).

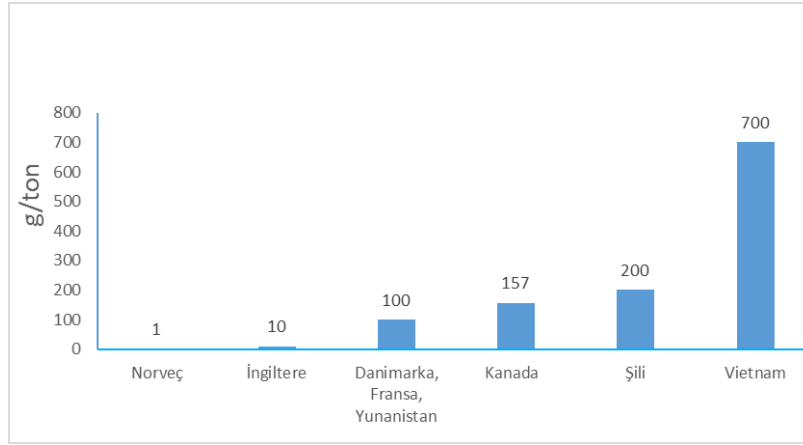
Antimikobiyal kullanımına alternatif diğer yöntemlerden birisi de probiyotiklerdir. Probiyotikler, konak canlılığının sağlıklı olmasına yardımcı olan, canlıyı zararlı bakteriyel

patojenlere karşı koruyan, canlıya direk ve dolaylı yoldan katkı sağlayan maddeler olarak tanımlanmıştır. Balığın türü ve su ortamına göre kullanılacak olan probiyotik değişiklik göstermektedir. Gram negatif, Gram pozitif ve tek hücreli algler (*Roseobacter* sp., *Archrobacter* sp., *Bacillus* sp., *Vibrio* sp., *Lactobacillus* sp. gibi) olmak üzere farklı tipte probiyotikler kültür balıkçılığında kullanılmıştır (Candan ve Karataş, 2010).

Antibiyotikler balık hastalıklarını tedavi etmek amacı ile kullanılmaktadır. Geçmişte, kültür balıkçılığında antibiyotikler çok daha fazla kullanılmaktaydı. Muhtemel ekolojik ve insan sağlığı riskleri konusundaki artan farkındalığa ve bunların kullanımına ilişkin katı düzenlemelere yanıt olarak, günümüzde antibiyotikler çok kısıtlı bir şekilde kullanılmaktadır (Topal ve diğ., 2015).

Tarım uygulamalarındaki gelişmeler hayvan sağlığının iyileştirilmesine ve antibiyotik ihtiyacının azalmasına neden olmuştur. Aşıların geliştirilmesi de antibiyotik kullanımını önemli ölçüde azaltmıştır. Su ürünleri yetiştiriciliğinde kullanılan antibiyotiklerin çevre ve insan sağlığı üzerindeki etkileri bilinmemekle birlikte, şu ana kadar yapılan araştırmalarla ortaya çıkan endişeler, diğer veterinerlik ve insan tıbbi uygulamalarında olduğu gibi, kontrollü bir şekilde kullanımlarını daha da desteklemiştir.

Antibiyotik kullanımı ile ilgili olarak dünyada genel olarak az sayıda ülke hayvansal üretimde kullanılan antibiyotik miktarlarını izlenmektedir. Dolayısı ile yeterli veri bulunmadığından kültür balıkçılığında kullanılan antibiyotik miktarları tam olarak bilinmemektedir. Smith (2008), kültür balıkçılığında kullanılan antibiyotik miktarının ülkeden ülkeye çok büyük farklılıklar gösterdiğini ve Vietnam'da 700 g/ton ile en yüksek, Norveç'te ise 1 g/ton ile çok az miktarda antibiyotik kullanıldığını rapor etmiştir. Son verilere göre Şili de salmon kültür balıkçılığında kullanılan antibiyotik miktarının 530 g/ton'a ulaştığı rapor edilmiştir (Miranda ve diğ., 2018). Bazı ülkelerde kültür balıkçılığında kullanılan antibiyotik miktarları Şekil 2.2'de verilmiştir Smith, 2008).



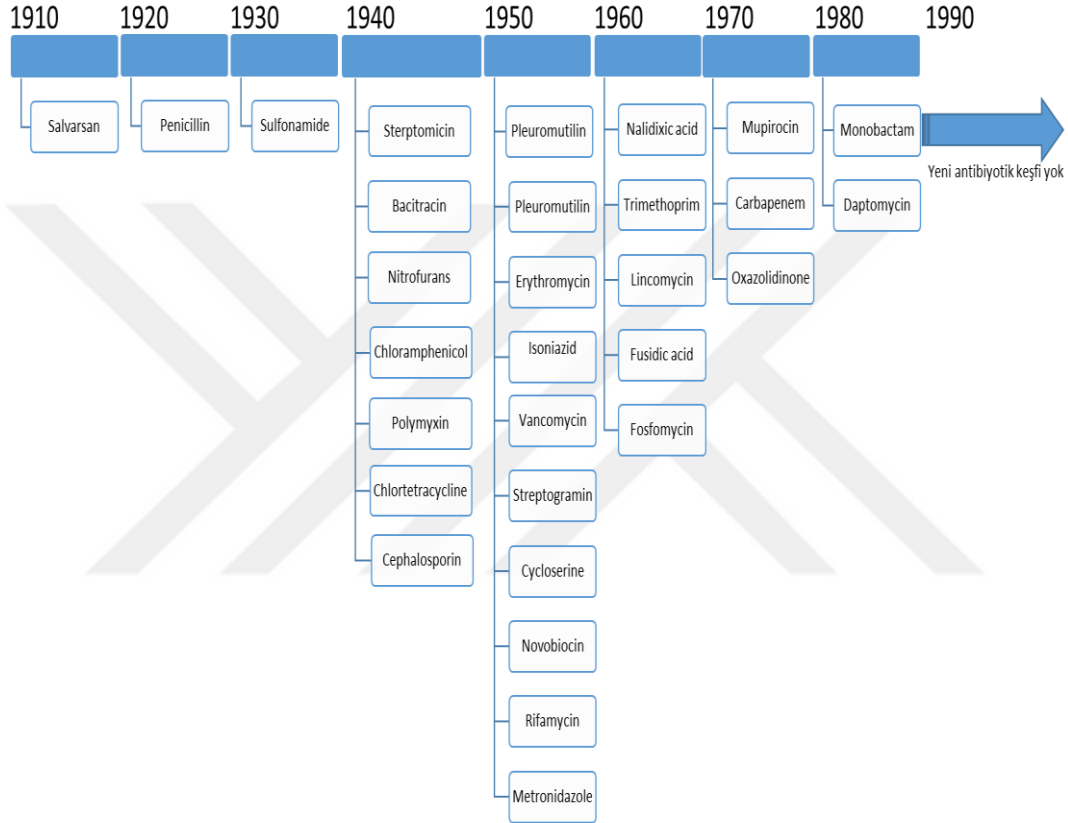
Şekil 2.2: Bazı ülkelerde kültür balıkçılığında kullanılan tahmini antibiyotik miktarları (Smith, 2008 modifiye edilerek kullanılmıştır)

Avrupa kültür balıkçılığında antibiyotikler genellikle yeme ilave edilerek hastalıkları tedavi etmek amacı ile balıklara uygulandığından açık deniz kafeslerinin bulunduğu alanlarda balık dışkıları ile deniz ortamına geçebilmektedir. Örneğin, Rigos ve diğ., (2004), Yunanistan'da deniz balığı çiftliklerinde levrekler üzerine uygulanan oksitetrasiklinin tahmini % 60-73'ünün balık dışkıları ile çevreye salındığını rapor etmişlerdir (<http://ec.europa.eu/science-environment-policy>). Akuakültürde antibiyotiklerin yaygın ve sık kullanımı antibiyotik direncinin gelişmesi ve yayılması ile sonuçlanmıştır. Antimikrobiyal direnç endişe verici bir boyuta ulaştığı için pek çok ülkede ciddi bir tehdit olarak kabul edilmektedir (WHO, 2017).

Dünya sağlık örgütü insan sağlığı için kritik öneme sahip altı antibiyotik grubunun (aminoglikozitler, makrolidler, penisilinler, kinolonlar, sülfonamidler ve tetrasiklinler) tarım ve akuakültür sektöründe yaygın olarak kullanıldığını ifade etmişlerdir. Balık yetiştiriciliğinde kullanılan antibiyotikler ülkelerdeki yasal kısıtlamalara göre çok az farklılık gösterebilmektedir. Ancak genel olarak balık yetiştiriciliğinde balık hastalıklarını tedavi etmek amacı ile oksitetrasiklin, florfenikol, amoksisilin, eritromisin, flumekuoin, oksalinik asit kullanılmaktadır. Ayrıca kültür balıklarında ortaya çıkan hastalıkları tedavi etmek için kullanılan antibiyotik miktarı diğer hayvanlarda kullanılan dozdan daha yüksektir (Romero ve diğ., 2012; Santos ve Ramos, 2018).

Antimikrobiyal direnç mikroorganizmalar için normal evrimsel süreçtir ancak antibakteriyel ilaçların yaygın ve uygunsuz kullanımı bu süreci hızlandırmaktadır. Antibiyotiklerin Alexander

Fleming tarafından keşfedilmesinden bu yana 1980'li yılların sonlarına kadar farklı etkili antibiyotikler üretilmiştir. Ancak bu tarihten sonra üretim süreçlerinin zor ve maliyetlerinin çok yüksek olması nedeni ile yeni antimikrobiyal keşif yapılamamıştır (Şekil 2.3) (Silver 2011; WHO, 2017).



Şekil 2.3: Antimikrobiyallerin keşfi ve tarihsel gelişimi.

Günümüzde insan ve hayvan sağlığı üzerinde risk oluşturması nedeni ile antibiyotiklerin daha dikkatli kullanılmaları gerektiği konusunda artan bir farkındalık oluşmuştur. Sonuç olarak bu farkındalık son zamanlarda antibiyotiklerin profilaktik kullanımı ve kültür balıkçılığında antibiyotik kalıntılarının varlığına ilişkin daha katı düzenlemelerin uygulanmasına yansımıştır. Sürdürülebilir su ürünleri yetiştiriciliğinde bakteriyel enfeksiyonları kontrol etmek için yeni stratejilere ihtiyaç bulunmaktadır. Bu yöntemlerin çoğu hala araştırma aşamasındadır; bununla

birlikte birkaçı saha ortamın da test edilmiştir. Akuakültürün yapıldığı bölgelerde sedimentte yaşayan bakterilerde %50-100 oranında tetrasikline direnç olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir.

Bu nedenle son yıllarda balık sağlığı yönetimi konusu popüler hale gelmiştir. Hastalıklar çıkmadan önce koruyucu önlemlerin alınması, balığın ve yaşadığı suyun florasının kontrollü bir şekilde balık ve çevre için uygun hale getirilmesi önemli ve güncel bir konu haline gelmiş ve hastalıkların çıkışını engelleyecek çevre dostu metotlar üzerine yapılan araştırmalar artmıştır. Olası seçeneklerden biri, bakteriyel patojeni hedefleyen belirli bir fajın terapötik kullanımınıdır (Candan ve Karataş, 2010).

2.3. BAKTERİYOFAJLARIN TARİHÇESİ VE SINIFLANDIRILMASI

Bakteriyofajların modern bilim tarafından keşifleri, bin yüzyıldan daha eskidir. 1896 yılında, Ernest Hanbury Hankin isimli bir İngiliz bakteriyolog, Hindistan'ın Ganj ve Yamuna nehir sularında koleraya karşı antibakteriyel etkileri olduğunu ve bu olaya canlı bir varlığın sebep olduğu gözlemlemiştir. Bu suların çok ince porselen filtrelerden geçirildikten sonra bile bu özelliğini koruduğunu rapor etmiş (Hankin, 1896). Kaynatıldığında bu özelliğini kaybettiğini gözlemlemiştir (Abedon ve diğ., 2011). Hankin'den sonra 1915 yılında yine bir İngiliz bakteriyolog olan Frederick Twort, üremekte olan bakteri kolonilerinde ölüme neden olan ultra-mikroskobik bir ajan keşfettiğini bildirmiş ancak 1. Dünya Savaşının başlaması ile birlikte çalışmalarına devam edememiştir (Twort, 1915).

Bu çalışmalardan bağımsız olarak 1917 yılında Felix d'Herelle isimli araştırmacı, kanalizasyondan alınan bakteri içermeyen filtratların, dizanteri mikroplarını öldürdüğünü gözlemlemiş ve bu ajanı "görünmeyen bir dizanteri antagonistiği mikrobu" olarak tanımlamıştır (d'Herelle, 1917). Bakteriyofaj, terimi tanımlanmış ve dizanteri hastalarında kullanılmaya başlanılmıştır (Haq ve diğ., 2012). Bu çalışmaların bir sonucu olarak, faj tedavisi üzerine ilk makale 1921 yılında yayımlanmıştır (Brunoghe ve Maisin, 1921). Bu çalışmalardan birkaç yıl sonra, bakteriyofajları çalışmalarını daha ileri boyuta taşıyarak ve faj tedavisini geliştirmek üzere 1923 yılında Tiflis-Gürcistan'da ilk bakteriyofaj enstitü kurulmuştur. Bu enstitü halen faj terapisi araştırmakta ve çeşitli bakteriyel hastalıkların tedavisinde faj tedarik etmektedir (Summers, 2001; Sulakvelidze ve diğ., 2001; Sulakvelidze ve Kutter, 2004). İnsan hekimliğinde bakteriyofaj ilk kez Hindistan'da kolera hastalığı tedavisi için d'Herelle (1931)

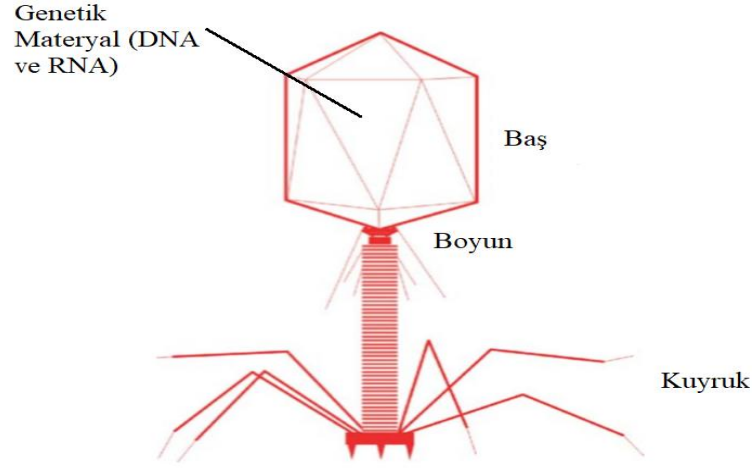
tarafından kullanılmıştır. İzleyen yıllarda, faj tedavisi ile ilgili mevcut literatür üzerine ilk eleştirel derleme 1934 yılında yayımlanmış ancak yazarlar, faj tedavisi lehine olmayan bir sonuca varmışlardır (Eaton ve Bayne-Jones, 1934). 1940 yılında Helmut Rushka tarafından ilk kez elektron mikroskopunda incelenmiştir (Ustaçelebi ve diğ., 1968). 1951 yılında “ λ ” lambda fajı izolasyonu ilk kez Esther Lederberg tarafından yapılmıştır (Lederberg ve Lederberg, 1953) ve bu yıllardan başlamak üzere fajlar moleküler biyolojide rutin bir şekilde kullanmışlardır. Faj genomlarının dizilenmesine ise ilk kez 1970’lerin sonlarına doğru başlanmıştır (Fiers ve diğ., 1976).

Fajlar ile ilgili çalışmalar daha önce başlamış olmasına karşın, 1930’ların sonlarına doğru antibiyotiklerin keşfedilmesiyle birlikte fajların klinik kullanımıyla ilgili araştırmalar neredeyse tamamen durmuştur. Sonraki yıllarda, uzunca bir süre faj tedavisi yerine antibiyotik ile ilgili çalışmalar yapılmış ve 1980’li yılların başında tekrardan faj tedavisi ile ilgili ciddi araştırmalar yapılmaya başlanmıştır (Smith ve Huggins, 1982).

Fajların bakteriyel ajanlara karşı etkilerinin gözlenmesinin hemen ardından çeşitli ticari ürünler geliştirilmiştir. Örneğin Eliava Enstitüsü 1920’li yıllarda kurulduktan sonra; Staphylococci, Pseudomonas, Proteus ve birçok enterik patojene karşı, günde tonlarla ifade edilen faj üretimi yapmıştır. 1940’larda Amerika Birleşik Devletleri’nde, the Eli Lilly Company, insan kullanımı için staphylococci, streptococci, *Escherichia coli* ve diğer bakteriyel patojenlere karşı kullanılmak üzere yedi farklı faj ürünü üretmiştir. 1952 yılında Polonya’da kurulan Hirszfild Enstitüsü, 1957 yılından itibaren yoğun bir şekilde çalışarak; sepsisemi, furunkulozis, pulmoner ve üriner kanal enfeksiyonları ve postoperatif ve posttravmatik enfeksiyonların tedavisi veya profilaksisinde kullanılan ürünler geliştirmiştir (Sulakvelidze ve diğ., 2001). Bunların dışında günümüze kadar pek çok faj araştırması hayvanlarda (Smith ve Huggins, 1983; Smith ve Huggins, 1987; Soothill ve diğ., 1988; Bogovazova ve diğ., 1991) ve insanlarda (Slopek ve diğ., 1983; Slopek ve diğ., 1987; Abdul-Hassan ve diğ., 1990; Kaczowski ve diğ., 1990; Stroj ve diğ., 1999) yapılmıştır. Gelişen antibiyotik direnci sorunuyla birlikte, fajların insan-hayvan hekimliğinde klinik kullanımının gelecekte çok daha fazla önemli hale geleceği düşünülmektedir (Kingwell, 2015).

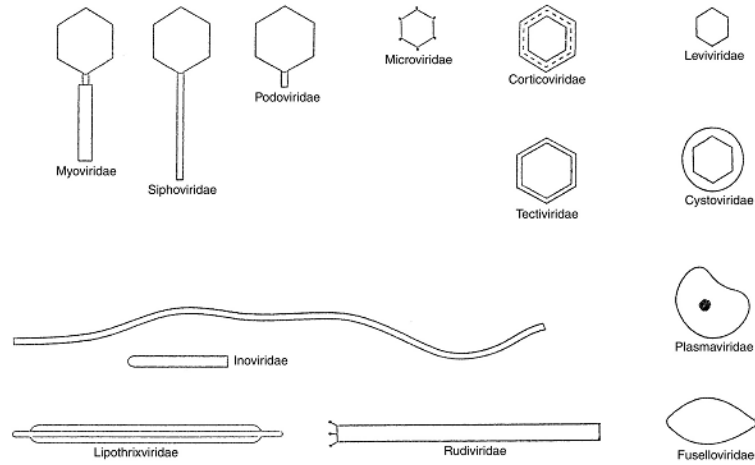
Bakteriyofajlar, bakterilerin zorunlu intraselüler parazitleridir, bakterileri infekte eden virüslerdir. Bakteriyofajlar diğer virüsler gibi nükleik asit ve protein kılıftan ibarettir. Farklı

şekilleri olmakla birlikte, çoğunda nükleik asidin konak hücreye transferinde bir kanal ya da köprü vazifesi gören bir kuyruk bulunur (Şekil 2.4) (Carlton, 1999; Carter ve Saunders, 2007).



Şekil 2.4: Bakteriyofajın yapısı (Carter ve Saunders, 2007).

Yüksek sıcaklık, uygun konakta çabuk çoğalan, düşük pH gibi zor koşullarda bile hayatta kalabilen fajlar International Committee for Taxonomy of Viruses (ICTV) tarafından morfolojik özellikleri, nükleik asit tipleri ve konak tipine göre (Şekil 2.5) Caudovirales ordusu altında sınıflandırılmışlardır (Sulakvelidze ve diğ., 2001).

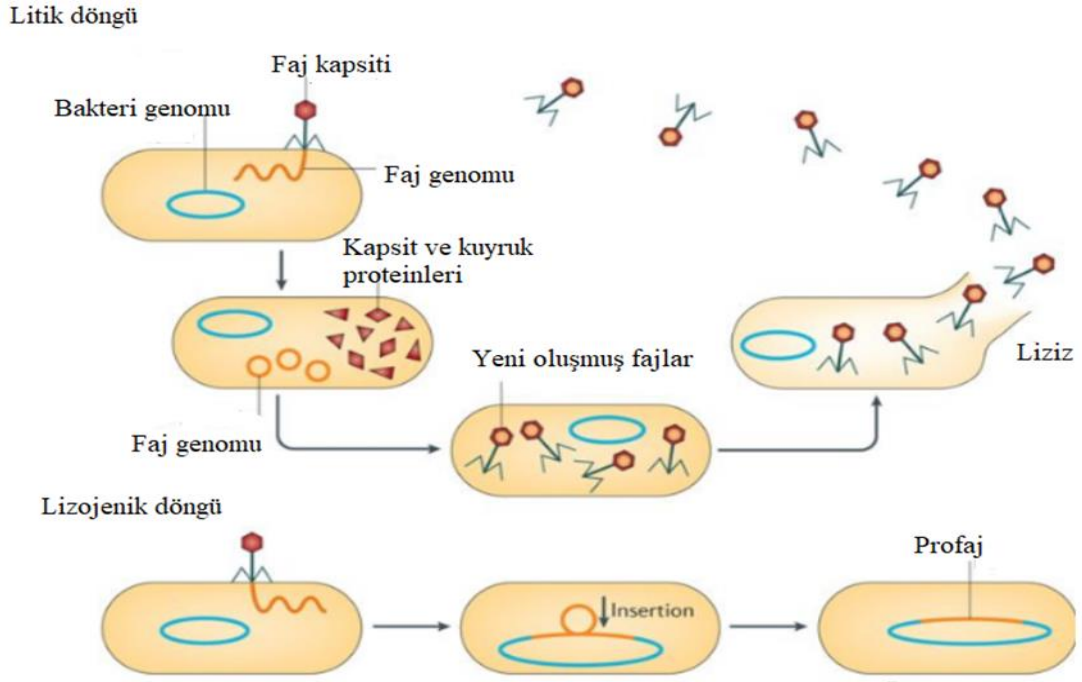


Şekil 2.5: Temel bakteriyofaj tipleri Kutter ve Sulakvelidze, 2004; Ackermann, 2007).

Fajlar doğada en çok bulunan organizmalardır (10^{30} - 10^{31} arasında). Konak bakterileri nerede yaşıyorsa o bölgede çok sayıda bulunurlar. Yaklaşık olarak saniyede 10^{23} faj enfeksiyonu gerçekleştirildiği ve dünyadaki bakterilerin yarısının 48 saatte fajlar tarafından yok edildiği gözlemlenmiştir (Sulakvelidze ve diğ., 2001).

Genetik materyal olarak virüsler gibi DNA ya da RNA içerirler ve konak bakteri yönünden oldukça seçicidirler. Her fajın içinde çoğalabileceği spesifik bir bakteri konağı bulunur. Virüslerde olduğu gibi çoğalma safhaları bulunur: adsorbsiyon, penetrasyon, bakteri içinde gelişme dönemi, olgun fajların meydana gelmesi ve fajların serbest kalması (Lodish ve diğ.,2000; Guttman ve diğ.,2004).

İki farklı yaşam döngüsüne sahip olan bakteriyofajlar litik ya da lizojenik fazda çoğalmaktadırlar (Şekil 2.6). Litik döngüde çoğalan virüs hücresi konak hücrenin ölmesine sebep olurken, lizojenik döngüde ise faj enfekte olmakta ancak besin maddelerinin yetersiz kalması durumunda endojen fajlar etkinleşerek konak hücre parçalanmaktadır. Litik fajlar antibiyotikler ile karşılaştırıldıklarında çevreye negatif etkilerinin bulunmaması nedeni ile bakteriyel patojenlerin kontrolünde alternatif biyoterapötik ajan olarak düşünülmektedir ve ziraat alanında, et ve peynir üretiminde bakteriyel enfeksiyonların kontrolü içinde kullanılmışlardır.



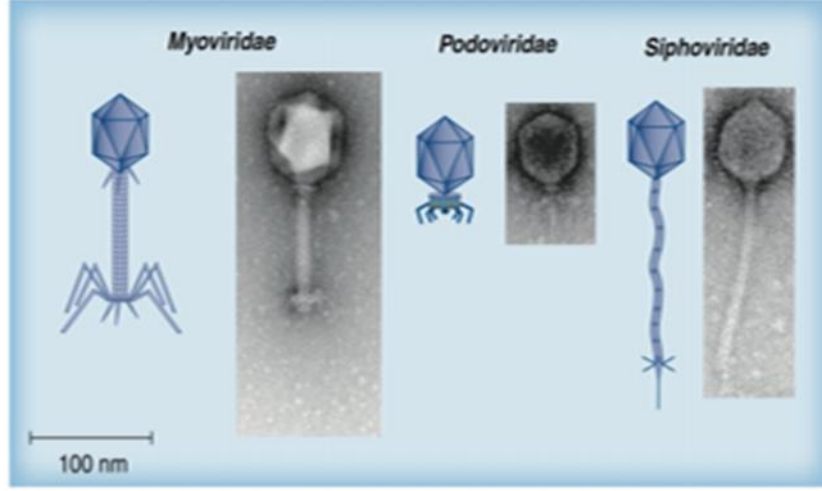
Şekil 2.6: Fajların yaşam döngüsü (Feiner ve diğ., 2015).

Bakteriyofajlar, pek çok habitatta kolonize olmuşlardır ve doğada litik ve lizojenik özellikte bulunmaktadır. Bakteriyofajların sınıflandırması, International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) tarafından, fajın morfolojisine ve içerdiği nükleik asit tipine göre yapılmaktadır ve günümüz itibarı ile morfolojisi bilinen faj sayısı 5500'ün üzerindedir (Ackermann, 2007).

2.4. BAKTERİYEL BALIK HASTALIKLARINDA BAKTERİYOFAJLARIN KULLANIMI

İnsanlarda görülen hastalıkları etkili bir şekilde tedavi etmek için uzun yıllardır kullanılan bakteriyofajlar doğal olarak oluşan, bakterileri enfekte eden virüslerdir. Litik fajlar hızlı bir şekilde çoğaldıklarından çoğunlukla çeşitli gıdalarda patojenlerin azaltılmasında ve hayvan enfeksiyonlarının tedavisinde de kullanılmaktadırlar (Richards, 2014; Cooper, 2016). Özellikle patojenik bakteriler nedeniyle larvaların yüksek ölüm oranlarına sahip olduğu akuakültür sektöründe bu olumsuzluğu azaltmaya yönelik etkili ve ucuz bir yaklaşım arayışına alternatif olarak faj tedavisi doğmuştur.

Akuatik çevreden izole edilen bakteriyofajların büyük çoğunluğunun Myoviridae, Siphoviridae ve Podoviridae familyalarına ait olduğu rapor edilmiştir (Şekil 2.7.) (Paul ve Sullivan, 2005).



Şekil 2.7: Akuatik çevreden izole edilen bakteriyofajlar (Paul ve Sullivan, 2005).

Fajdaki gelişmeler tedavi için harcanan zaman ve maliyet miktarını düşürmüştür. Sadece hedef bakteriye özgüdür, diğer mikrobiyaller ve fajlara direnç geliştirmezler, hayvan, çevre, bitkiler için toksik değildir. Canlı mikroflorası için faydalıdır ve diğer antimikrobiyaller ile birlikte kullanılabilirler. Fajlar farklı şekillerde uygulanabilir. Katı ve sıvı besiyerlerinde üreyebilirler (Elliott, L., 2014, Madhusudana ve Lalitha, 2015). Yaşam süreleri kısadır, hedef bakteri bittiğinde yok olurlar, antibiyotik gibi direnç geliştirmezler. Bakteriyofaj tedavisi ucuz, hızlı ve basittir. Antibiyotik direncine göre faj direnci yaklaşık olarak 11 kat daha yavaş gelişmektedir. Çok zorlu koşullar altında bile etkili olmaya devam ederler ve konak canlı üzerinde herhangi bir olumsuz etkileri bulunmamaktadır (Parasion ve diğ., 2014). Faj tedavisi yapılabilmesi için öncelikle bakterinin tanımlanması gerekmektedir. Kona özgü faj izalasyonu kolay olmasına rağmen terapide kullanılabilir hale getirilmesi zaman alır ve uzman gerektirir. Bakteriyofaj kullanımının avantaj ve dezavantajları Tablo 2.3 de verilmiştir (Madhusudana ve Lalitha, 2015).

Tablo 2.3:Bakteriyofaj kullanımının avantaj ve dezavantajları (Madhusudana ve Lalitha, 2015).

Avantaj	Dezavantaj
Yan etkileri bulunmaz (alerji, enfeksiyon, bakteriyel direnç gibi)	Enfeksiyona neden olan bakterinin kesin tanısı gereklidir
İzolasyonları ve üretimleri kolaydır	Yasal düzenlemelere ihtiyaç vardır
Gram + ve/veya Gram – bakteriler için kullanılabilirler	Antibiyotik direnci ile karşılaştırıldığında kısmen daha yavaş gelişen faj direnci olabilir
Spesifik patojeni öldürdükleri için normal flora üzerine herhangi bir etkileri bulunmaz	Konak bakteriye gen transferi olabilir
Uygulaması kolaydır (sprey şeklinde/ suya karıştırılarak)	
Antibiyotik ve dezenfektanlar ile sinerjik etki gösterirler	
Tedavi etmek için yada sanitasyon amacı ile kullanılabilirler	
Her yerde buldukları için güvenli oldukları düşünülebilir	
Nispeten ucuzdurlar	
Bakteriler dışındaki canlılar (insan, hayvan, bitki) için zararsızdırlar	

Su ürünleri sektöründe bazı bakteriyel patojenlere (*Vibrio parahaemolyticus*, *V. anguillarum*, *V. harveyi*, *V. vulnificus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *P. plecoglossicida*, *Flavobacterium columnare*, *F. psychrophilum*, *Edwardsiella ictaluri*, *E. tarda*, *Aeromonas hydrophila*, *A. salmonicida*, *Streptococcus iniae*, *Lactococcus garvieae*) karşı litik fajların etkisi *in vivo* ve *in vitro* olarak çalışılmıştır (Madhusudana ve Lalitha, 2015). Lizojenik fajlar için ise tam tersi bir durum söz konusudur. Patojen bakteriler ile birleşerek onların virülensini de arttırdığı bazı çalışmalarda bildirilmiştir (Ruangpan ve diğ., 1999; Munro ve diğ., 2003) ve bu nedenden dolayı lizojenik fajlar faj tedavisinde kullanılmamalıdır (Richards, 2014). Günümüz akuakültüründe bakteriyofajlar patojen bakterilerden kaynaklanan hastalıkların önleminde ve tedavisinde kullanılan çevre dostu bir uygulama olarak bilinmektedir. Kültür balıkçılığında faj kullanımının araştırıldığı çalışmalar Tablo 2.4’de özetlenmiştir.

Tablo 2.4: Akuakültürde bakteriyofaj çalışmaları (Richard, 2014 ve Letchumanan ve diğ. 2016 modifiye edilerek hazırlanmıştır).

Akuakültür Ürünü	Etiyolojik Etken	Bakteriyofaj Türü	Faj Kaynağı	Kaynak
<i>Penaeus monodon</i>	<i>V. harveyi</i>	Myoviridae	Hasta karides larvasından izole edilen toksin üreten <i>V. harveyi</i> 642 izolatından	Oakey ve Owens, 2000
<i>P. monodon</i>	<i>V. harveyi</i>	Siphoviridae	Havuz suyu	Vinod ve diğ. 2006
<i>P. monodon</i>	<i>V. harveyi</i>	Siphoviridae	Karides kuluçkahane suyu ve istiridye dokusu	Karunasagar ve diğ. 2007
*	<i>V. harveyi</i>	Siphoviridae Myoviridae	Karides kuluçkahane suyu ve dere suyu	Shivu ve diğ. 2007
*	<i>V. harveyi</i>	Siphoviridae	Yumurta, <i>Artemia nauplii</i> , kuluçkahane tank suyu, sağlıklı larva, infekte karides post larvası	Srinivasan ve diğ. 2007
*	<i>V. harveyi</i> (CS101)	Siphoviridae	Havuz suyu örneği	Phumkhachorn ve Rattanachaikun sapon 2010
<i>Panulirus ornatus</i>	<i>V. harveyi</i>	Siphoviridae Myoviridae	Tahliye kanalı ve büyütme havuz suyu örneği	Crothers-Stomps ve diğ. 2010
<i>Crassostrea gigas</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	Siphoviridae		Jun ve diğ. 2014
<i>Ostrea plicatula</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	Litik faj VPP-1	Kanalizasyon suyu	Rong ve diğ. 2014
<i>Salmo salar</i>	<i>V. anguillarum</i>	309 CHOED CHOD CHOB ALME ALMED	Mıdye ve Deniz tarağı dokusu	Higuera ve diğ. 2013
<i>Danio rerio</i>	<i>V. anguillarum</i>	(VP-2,VA-1)	Kanalizasyon Suyu	Silva ve diğ. 2014
<i>Apostichopus japonicas</i>	<i>V. cyclitrophicus</i>	Siphoviridae		Li ve diğ. 2016
<i>Plecoglossus altivelis</i>	<i>P. plecoglossicida</i>	Podoviridae	Havuz suyu	Nakai ve Park 2002
<i>Seliora quinqueradiata</i>	<i>L. garvieae</i>	Siphoviridae	Kafes sistemi	Nakai ve Park 2002
<i>Misgurnus anguillicaudatus</i>	<i>A. hydrophila</i>	Myoviridae	Nehir su örneği	Jun ve diğ. 2013
<i>M. anguillicaudatus</i>	<i>A. hydrophila</i>			Wu ve diğ. 1981
*	<i>A. hydrophila</i>	PM2	Tatlısu örneği	Mrino ve diğ. 1990

<i>Salvelinus fontinalis</i>	<i>A. salmonicida</i>			Imbeault ve diğ. 2006
<i>O. mykiss</i>	<i>A. salmonicida</i>			Verner-Jeffreys ve diğ. 2007
<i>S. salar</i>	<i>A. salmonicida</i>			Verner-Jeffreys ve diğ. 2007
*	<i>Y. ruckeri</i>	YerA41 YerA7 YerA14 YerA3 YerA10 YerA20 Yer31B Yer2AT	Kanalizasyon suyu ve çamur örneği	Stevenson ve Airdrie 1984
<i>Paralichthys olivaceus</i>	<i>S. iniae</i>			Matsuoka ve diğ. (2007)
<i>Clarias batrachus</i>	<i>F. columnare</i>			Prasad ve diğ. 2011
<i>O. mykiss</i>	<i>F. psychophilum</i>			Madsen ve diğ. 2013
<i>O. mykiss</i>	<i>F. psychophilum</i>			Castillo ve diğ. 2012
<i>S. salar</i>	<i>F. psychophilum</i>			Castillo ve diğ. 2012

*: sadece *in vitro* olarak balık patojenlerine karşı denenmişlerdir.

Tan ve diğ., (2014) yapmış oldukları çalışmada farklı izolasyon protokolleri kullanarak 37 adet *Vibrio* izolatına (*V. anguillarum*, *V. cyclitrophicus*, *V. splendidus*, *Vibrio* sp.) özgü Myoviridae, Podoviridae ve Siphoviridae familyalarına ait 10 adet Vibriofaj izolasyonu gerçekleştirmişlerdir. İlk izolasyon protokolünde su örneği alındıktan sonra filtre edilerek eşit hacimde bakteri ve besiyeri ile, ikinci protokolde ise herhangi bir filtrasyon işlemi yapılmadan eşit hacimde besiyeri ile karıştırılmıştır. İki protokolde de örnekler 24 saat oda sıcaklığında inkübe edilerek inkübasyon sonunda kloroform ile muamele edilmiştir. Üçüncü protokolde su örneği alındıktan sonra filtre edilerek (0,22 µm) herhangi bir zenginleştirme işlemi yapılmadan direk faj izolasyon işlemine geçilmiştir. Dördüncü protokolde ise su örneği alındıktan sonra filtre edilmiş (0,22 µm) ve daha sonrasında 30 kDa santrifüj filtresi ile filtre edilmiştir. Birinci protokolden 4, ikinci protokolden 6 farklı Vibriofaj izolasyonu gerçekleştirmişlerdir. Hastalık çıkışlarının görüldüğü işletmelerden su örneği almış olmalarına rağmen spesifik faj izolasyonu gerçekleştiremediklerini ve konak bakterinin faja karşı direnç geliştirebileceğini rapor etmişlerdir. Çalışmada kullanılacak su örneğinin filtrasyona tabi tutulması ve kloroform ilave edilmesinin faj kayıplarına neden olabileceği bildirilmiştir (Tan ve diğ., 2014).

Tan ve diğ., (2014) *Vibrio* fajlarını izole ederek faj konak arasındaki etkileşimleri araştırdıkları çalışmalarında, farklı genom büyüklüğünde Myoviridae, Siphoviridae ve Podoviridae familyalarına ait 10 farklı *Vibrio*faj izolasyonu gerçekleştirmişlerdir. Aynı familyaya ait olsalar dahi farklı genom büyüklüğünde olduklarını rapor etmişlerdir. Hastalık çıkışlarının görüldüğü işletmelerden de faj izolasyon çalışmaları yaptıklarını ancak herhangi bir faj izole edemediklerini bildirmişlerdir.

Bakteriyofaj izolasyonunu etkileyen birçok faktör bulunmaktadır, bunlardan birisi de uygun metodun (kloroform kullanılması, filtrasyon ve santrifüj işleminin yapılması gibi) seçimidir. Faj izolasyon metodları birbirlerine benzerlik göstermelerine rağmen, spesifik faj izolasyonu farklılıklar gösterebilmektedir (Middelboe ve diğ., 2010).

Middelboe ve diğ., (2010) bakteri ve siyanobakterler için kullanılabilecek faj izolasyon metodlarının avantaj ve dezavantajlarını araştırdıkları çalışmalarında izolasyon öncesi yapılan filtrasyon ve santrifüj işleminin faj kayıplarına neden olabileceğini rapor etmişlerdir. Ayrıca izolasyonda kullanılacak suyun ön zenginleştirme işlemine tabi tutulmasının çok daha büyük bir numune hacminde fajların taranmasına izin vereceği ve faj izolasyon şansını artıracaklarını bildirilmiştir.

Vinod ve diğ., (2006) *V. harveyi*'nin kontrolü için Hindistan'ın batı kıyılarındaki bir karides çiftlik suyundan izole ettikleri Siphoviridae familyasına ait bakteriyofajın; Hindistan'ın hem batı hem de doğusundan izole edilmiş *V. harveyi* suşları üzerinde geniş bir litik aktivitesi olduğunu rapor etmişlerdir. Akuakültür sistemlerindeki *V. harveyi*'lerin kontrolü için bu fajların potansiyel olduğunu bildirdikleri çalışmalarında 10^9 pfu/ml bakteriyofaj süspansiyonu ile faj tedavisi uyguladıkları gruptaki karides larvaların hayatta kalma oranını antibiyotik ile tedavi uygulanan gruptan daha fazla olduğu ve kuluçkahanedeki tanklarda bulunan *V. harveyi* sayısında da azalma saptadıklarını bildirmişlerdir.

Portekiz'de kanalizasyon sisteminden alına su örneklerinden izole edilen iki *Vibrio*fajının zebra balığı (*Danio rerio*) larvalarında *V. anguillarum* enfeksiyonuna karşı etkisi araştırılmıştır. 4 farklı deney grubu oluşturulduktan sonra birinci gruba *Vibrio* bakterisi ile birlikte faj, ikinci gruba *Vibrio* bakterisi, üçüncü gruba faj uygulanmış, son gruba hiçbir uygulama yapılmayarak balıklardaki mortalite oranı takip edilmiştir. Enfekte ve tedavi edilen grupta faj tedavisi uygulanmış gruba göre daha yüksek mortalite oranı kaydedilirken faj terapisinin etkili olduğu

ve doğrudan kültür suyuna faj ilave edilerek Vibriozise karşı faj terapisinin etkili olabileceği sonucuna varılmıştır (Silva ve diğ., 2014).

Ülkemizde balık patojeni *V. anguillarum*' a özgü faj izolasyonu çalışması ilk kez 2015 yılında Yıldızlı tarafından gerçekleştirilmiştir. Yapmış oldukları çalışmada deniz suyu örnekleri alınarak herhangi bir zenginleştirme işlemi yapılmamış ve direk filtre edilerek kullanılmıştır. Çalışma sonucunda çok küçük yapıda ve iğne ucu görünümlü plak oluşturan Caudovirales'e üye farklı boyutlarda fajlar izole edilmiştir (Yıldızlı, 2015).

Hoang ve diğ., (2019) yayın balıklarının (*Pangasianodon hypophthalmus*) yetiştiriciliğinin yapıldığı havuz suyundan *A. hydrophila* ya özgü faj izole ederek *in vitro* etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada kullanılan 100 adet havuz suyu örneğinden 24 adet faj izolasyonu gerçekleştirdiklerini rapor etmişlerdir.

Le ve diğ., (2018) Vietnam' daki yayın balıklarında çeşitli antibiyotik tedavileri uygulanmasına rağmen yüksek ölüm oranlarına neden olan *A. hydrophila* izolatının antimikrobiyal dirençlerini araştırarak faj izolasyon çalışmaları yapmışlardır. Çalışmada kullanılan altı izolatın hepsinin gentamisin, oksitetrasiklin, baktrim, enroflaksasin, amoksilin/klavulanik asit ve amfisiline dirençli olduğu ve çoklu antibiyotik direncinin görüldüğü rapor edilmiştir. İzole edilen iki fajında Myoviridae familyasına ait olduğu rapor edilmiştir. *A. hydrophila* izolatlarının üremesini engelleyici etkiye sahip olduğu, hazırlanan faj kokteylinin yayın balıklarında *A. hydrophila* enfeksiyonunun tedavisinde kullanılabileceği sonucuna varılmıştır (Le ve diğ., 2018).

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. MALZEME

3.1.1. Çalışmada Kullanılan Su Örneklerinin Temini

Çalışmada kullanılan su örnekleri, İstanbul ili Kadıköy ilçesinde bulunan Kurbağalı Dere (1), Mersin Tarsus ilçesinde bulunan Berdan Irmağı (2), Adana Irmağı (3), yoğun hastalık çıkışlarının görüldüğü dönemlerde Akyazı'da ticari olarak tatlısu balığı üretimi yapan çiftlikten (4), Didim'de deniz balığı üretimi yapan çiftlikten (5), İstanbul Üniversitesi Su Bilimleri Fakültesi Sapanca İçsu Ürünleri Üretimi Araştırma ve Uygulama Biriminde bulunan alabalık kuluçka tanklarından (6) ve İ.Ü. Su Bilimleri Fakültesi kanalizasyon sisteminden (7) alınmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1: Çalışmada kullanılan su örneklerinin temin edildiği bölgeler

3.1.2. Çalışmada Kullanılan Bakteri Kültürleri ve Lambda Faj

Çalışmada kullanılan bakteriyel izolatlar İ.Ü. Su Ürünleri Hastalıkları Anabilim Dalı Kültür Koleksiyonunda mevcut bulunan ve moleküler olarak da teşhisleri yapılmış izolatlardan (*V. anguillarum*, *A. hydrophila*, *A. sobria*, *Y. ruckeri*) ve Dr. Refik Saydam Hıfzı Sıha Enstitüsünden hibe yolu ile alınmış ve *Escherichia coli* O157:H7 suşu ise Fakültemiz Su Ürünleri İşleme Teknolojisi Anabilim Dalından temin edilmiştir. Aynı zamanda hastalık çıkışının görüldüğü Akyazı'daki işletmeden bakteri izolasyonu gerçekleştirilerek çalışmada bakteriyofaj üretimi için kullanılmıştır. Gram (-) ve Gram (+) bakterilerden; *Aeromonas hydrophila* (1 adet), *Aeromonas sobria* (2 adet), *Vibrio anguillarum* (1 adet), *Yersinia ruckeri* (13 adet) ve *Escherichia coli* O157:H7 (1 adet) kullanılmıştır (Tablo 3.1). Elektron mikroskopu çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılan “λ” lambda faj (*E.coli* 392 (ATCC 40236)) ise ATCC kültür koleksiyonundan satın alınarak kullanılmıştır (Tablo 3.1).

Tablo 3.1: Çalışmada kullanılan izolatlar

	İzolat Adı	Kültür Koleksiyon Kodu	İzole Edildiği Mevki	İzole Edildiği Balık Türü	İzole Edildiği Organ	İzole Edildiği Besiyeri	İzole Edildiği Yıl
1	<i>V. anguillarum</i>	HVA	Bodrum	<i>D. labrax</i>	Karaciğer	MA	2011
2	<i>A. hydrophila</i>	TODM8	Bolu	<i>O. mykiss</i>	Böbrek	TSA	2015
3	<i>A. sobria</i>	PQ3	İzmir	<i>O. mykiss</i>	Karaciğer	TSA	2016
4	<i>A. sobria</i>	Bu çalışma sırasında izole edilmiştir	Akyazı	<i>O. mykiss</i>	Böbrek	TSA	2019
5	<i>Y. ruckeri</i>	Bu çalışma sırasında izole edilmiştir	Akyazı	<i>O. mykiss</i>	Karaciğer	TSA	2019
6	<i>Y. ruckeri</i>	YR2	Bolu	<i>O. mykiss</i>	Karaciğer	TSA	2015
7	<i>Y. ruckeri</i>	YR3	Bolu	<i>O. mykiss</i>	Dalak	TSA	2015
8	<i>Y. ruckeri</i>	YR4	Sapanca Birim	<i>O. mykiss</i>	Karaciğer	TSA	2016
9	<i>Y. ruckeri</i>	YR7	Akyazı	<i>O. mykiss</i>	Karaciğer	TSA	2016
10	<i>Y. ruckeri</i>	YR8	İstanbul	<i>O. mykiss</i>	Karaciğer	TSA	2016
11	<i>Y. ruckeri</i>	YR9	İstanbul	<i>O. mykiss</i>	Dalak	TSA	2016
12	<i>Y. ruckeri</i>	YR11	Sapanca	<i>O. mykiss</i>	Dalak	TSA	2016
13	<i>Y. ruckeri</i>	YR12	Sapanca	<i>O. mykiss</i>	Dalak	TSA	2016
14	<i>Y. ruckeri</i>	YR17	Fethiye	<i>O. mykiss</i>	Dalak	TSA	2013
15	<i>Y. ruckeri</i>	YR18	Fethiye	<i>O. mykiss</i>	Karaciğer	TSA	2013
16	<i>Y. ruckeri</i>	M16	Bolu	<i>O. mykiss</i>	Karaciğer	TSA	2015
17	<i>Y. ruckeri</i>	MKD1	Bolu	<i>O. mykiss</i>	Dalak	TSA	2015

3.1.3. Çalışmanın Gerçekleştirildiği Kurum ve Kuruluşlar

Faj izolasyonu ve gerekli tüm bakteriyolojik çalışmalar; İ.Ü Su Bilimleri Fakültesi Su Ürünleri Yetiştiriciliği ve Hastalıkları Bölümü, Su Ürünleri Hastalıkları Anabilim Dalına ait Mikrobiyoloji ve Histopatoloji Laboratuvarı, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Laboratuvarı, fajların elektron mikroskopunda görüntülenmesi; İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.1.4. Çalışmada Kullanılan Cihazlar

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Su Bilimleri Fakültesi Su Ürünleri Yetiştiriciliği ve Hastalıkları Bölümü, Su Ürünleri Hastalıkları Anabilim Dalı Mikrobiyoloji ve Histopatoloji Laboratuvarında bulunan Hirayama HV 85L marka otoklav, elektro-mag marka su banyosu, Radwag As 220.R2 marka hassas terazi, Thermo SL 40R marka santrifüj ve Mikrotest LT-5/SOC marka etüv cihazları kullanılmıştır.

3.1.5. Çalışmada Kullanılan Besiyerleri, Kimyasal Maddeler

Bakteriyolojik örneklerin ekimi için Tryptic Soy Agar (Himedia M463), Marine Agar (Difco 2216), Nutrient Broth (Merck 1.05443), Marine Broth (Difco), Pepton (Himedia M028), Tryptone (Himedia M463), Agar Agar (Fluka 05039-500G), Luria Bertani Broth (Himedia M1245-500G) gibi besiyerleri ve SM Buffer (Saline Magnesium Buffer), kalsiyum klorid ve kloroform gibi kimyasallar kullanılmış olup elektron mikroskopi için kullanılan solüsyonlar aşağıda verilmiştir.

PBS SOLÜSYONU

PBS tablet (BIOMATİK -A3602)	1adet
Distile su	100ml

Otoklavda 121°C'de 1,5 atmosfer basınç altında 15 dakika steril edilerek, kullanılıncaya kadar 4°C'de saklanmıştır.

GLUTERALDEHİT SOLÜSYONU (FİKSATİF) (% 2,5)

%25'lik gluderaldehit solüsyonu (Merck -1.04239.0250)	2,5ml
PBS	100ml

ÜRANİL ASETAT SOLÜSYONU (% 0,5)

Üranil asetat	0,5gr
Distile su	100ml

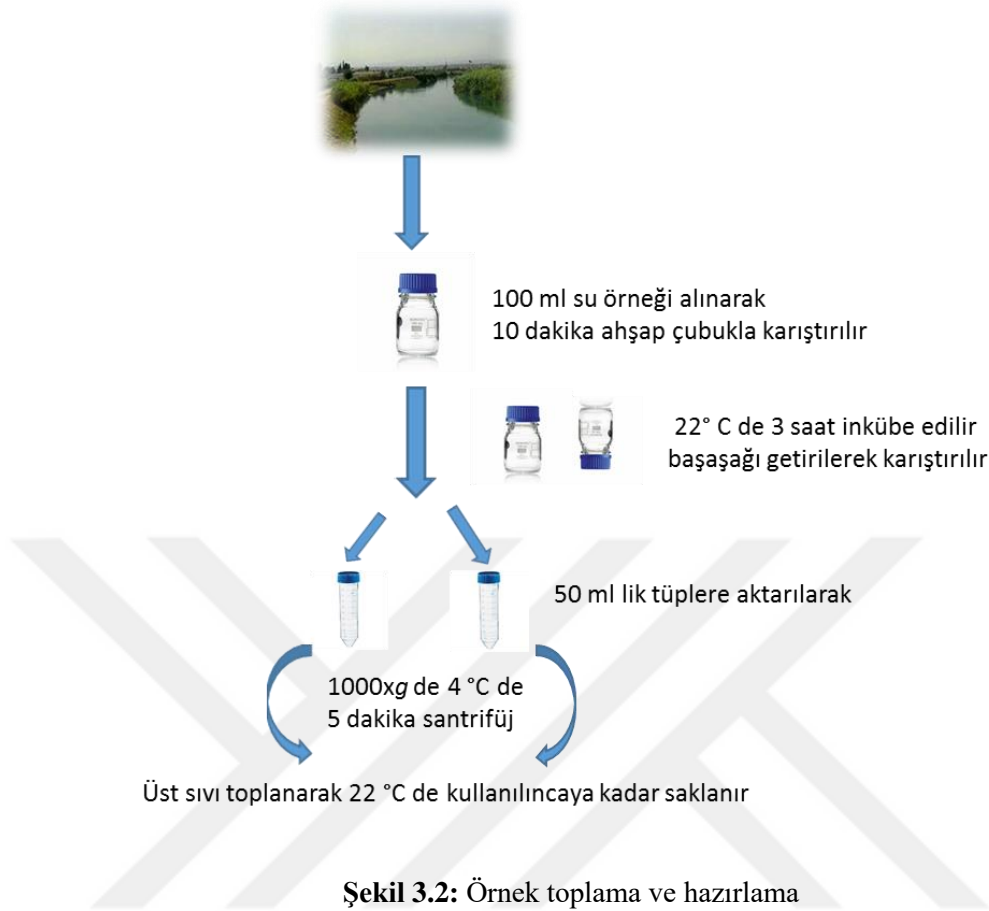
Hazırlanan gluteraldehit ve üranil asetat solüsyonları kullanılmadan önce 0,20 mikron göz açıklığına sahip ISOLAB marka şırınga filtre ile filtre edilmiştir.

3.2. YÖNTEM**3.2.1. Çalışmada Kullanılan Bakterilerin Morfolojik ve Biyokimyasal Özelliklerinin Tespiti**

Çalışmada bakteriyofaj üretimi için kullanılacak olan suşlar İstanbul Üniversitesi Su Bilimleri Fakültesi Su Ürünleri Hastalıkları Anabilim Dalına ait kültür koleksiyonundan elde edilmiştir. – 80 °C de saklanan *V. anguillarum*, *Y. ruckeri*, *A. hydrophila* suşlarının Marine Agar (MA) veya Tryptic Soy Agar (TSA) besiyeri kullanılarak yeni kültürleri elde edilmiş, temel morfolojik ve biyokimyasal özellikleri Buller (2004) ve Maturin ve Peeler (2009) tarafından bildirildiği şekilde incelenmiştir. Aynı şekilde çalışmalar sırasında Akyazı'da bulunan işletmedeki hastalık bulgusu gösteren alabalıklardan izole edilen bakteriler incelenerek teşhisleri gerçekleştirilmiştir.

3.2.2. Bakteriyofajların İzolasyonu**3.2.2.1. Örneklerin Toplanması ve Hazırlanması**

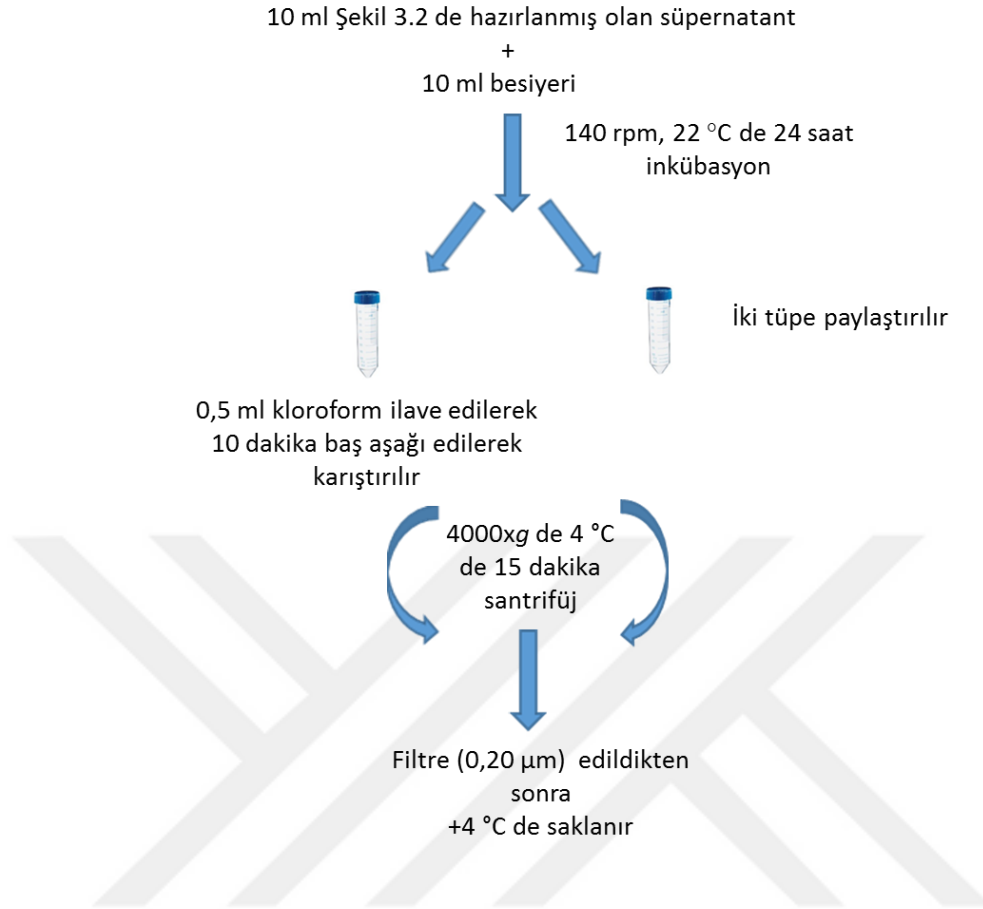
Xu (2016), tarafından bildirilen metot modifiye edilerek kullanılmıştır. Bu amaçla 250 ml steril cam şişe içerisine 100 ml su örneği alınarak 10 dakika boyunca steril ahşap çubukla karıştırılmıştır. Daha sonra 22°C de 3 saat inkübe edilmiş ve inkübasyon sırasında örnekler sık sık baş aşağı getirilerek karıştırılmıştır. İnkübasyon sonrası 50 ml'lik falcon tüplere ayrılarak 4° C 1000×g de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüjden sonra üst sıvı pipet yardımı ile alınarak daha sonraki aşamalarda kullanılmak üzere 22°C de bekletilmiştir (Şekil 3.2).



Şekil 3.2: Örnek toplama ve hazırlama

3.2.2.2. Faj Zenginleştirme

Van Twest ve Kropinski (2009), tarafından hazırlanan metod modifiye edilerek kullanılmıştır. Bölüm 3.2.2.1’de elde edilen ve 22°C de saklanan 10 ml süpernatat eşit hacimde sıvı besiyeri (2X) ile karıştırılarak 140 rpm de 22°C de 24 saat çalkalamalı inkübatörde inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra örnekler 2 adet 15 ml’lik falcon tüplerine yerleştirilmiştir. Örneğin bir tanesine, 0,5 ml kloroform ilave edilerek 10 dakika baş aşağı karıştırılmış ve 4000×g 4°C de 15 dakika santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir. Daha sonra süpernatat dikkatli bir şekilde 0,20 µm düşük protein bağlayan (selüloz asetat) filte ile steril edilerek 4°C de saklanmıştır (Şekil 3.3).



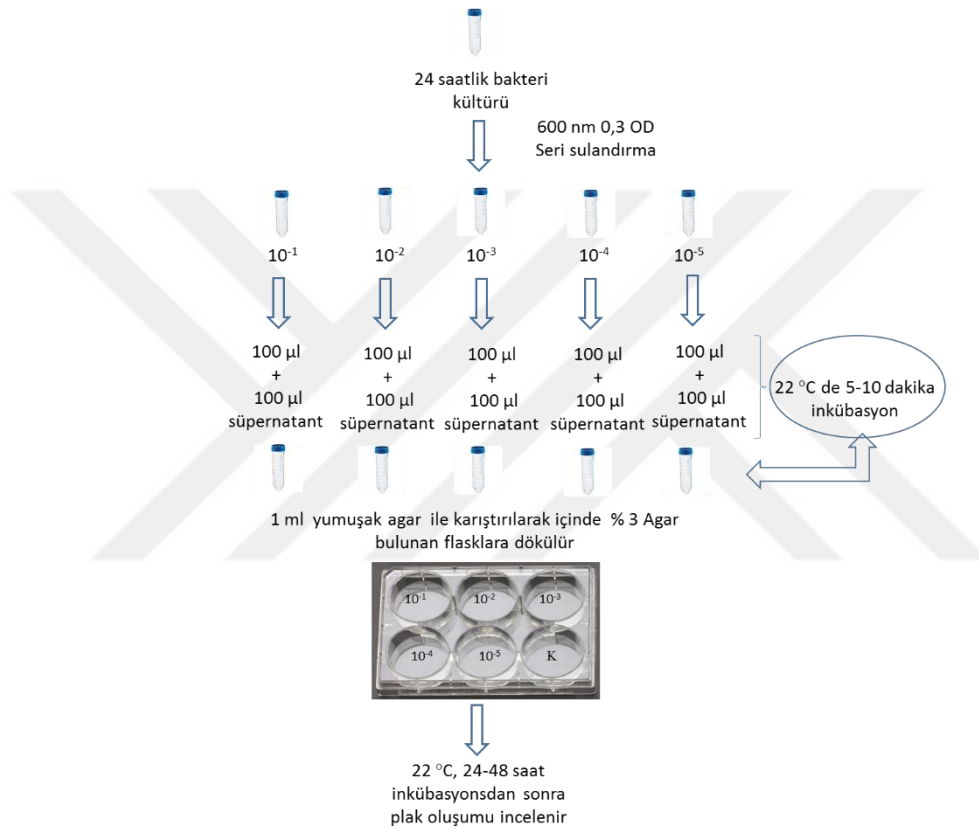
Şekil 3.3: Faj zenginleştirme işlemi

3.2.2.3. Çift Tabakalı Dökme Plak Yöntemi ile Faj Varlığının Belirlenmesi

Kropinski ve diğ., (2009), tarafından hazırlanan metot modifiye edilerek kullanılmıştır. Çift tabakalı dökme plak yönteminde kullanılmak üzere iki farklı yoğunlukta ve 0,01 M kalsiyum klorid ilave edilmiş agar besiyerleri hazırlanmıştır. Öncelikle 6'lı hücre kültürü için kullanılan flaskların alt tabakasına % 1,5 agar agar içeren besiyeri dökülerek agar katılaşmaya kadar oda sıcaklığında tutulmuştur. % 0,3 agar agar içeren yumuşak besiyeri ise kullanılmaya kadar 45-50°C de su banyosunda tutularak katılaşmasına engel olunmuştur.

Bakteriyofaj izolasyonu için kullanılacak olan bakteri suşlarının, Luria Bertani Broth besiyerinde 22°C de 140 rpm çalkalamalı etüvde inkübe edilerek 24 saatlik saf kültürleri hazırlanmıştır. İnkübasyondan sonra bakteri yoğunluğu OD₆₀₀ nm 0,3 (10⁸ CFU/ml) olacak şekilde ayarlanmıştır. Bakterilerin seri sulandırmaları hazırlanarak faj izolasyonun da kullanılmıştır (Xu, 2016).

Bölüm 3.2.2.2’de elde edilen süpernatantın 100 µl si yukarıda verilen ve 0,3 yoğunlukta hazırlanmış eşit hacimde 24 saatlik bakteri kültürü ile karıştırılarak 22°C de 5-10 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra karışıma 1 ml yumuşak agar ilave edilerek vorteksle karıştırılmıştır. Karışım daha önceden hazırlanmış agar (% 1,5) üzerine dökülerek agarın katılaşması için oda sıcaklığında beklenmiş ve daha sonra 22 °C de 24-48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucu flasklar plak oluşumu açısından incelenmiştir (Şekil 3.4).



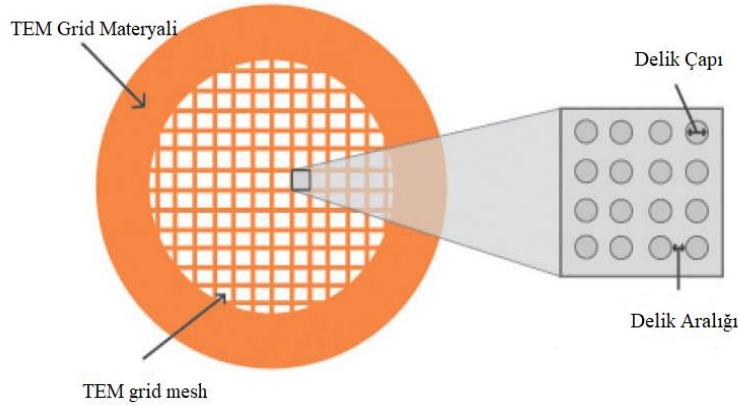
Şekil 3.4: Çift tabakalı agar yönteminde plak oluşumunun incelenmesi

3.2.2.4. Faj Morfolojisinin İncelenmesi

İnkübasyon sonucu oluşan plaklardan steril cam pastör pipeti/steril kürdan yardımıyla alınarak 1 ml SM buffer içerisine yerleştirilmiş daha sonra 50 µl kloroform eklenerek tüpler baş aşağı karıştırılmıştır. Örnekler 22°C de 200 rpm de 2 saat boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda yukarıda anlatılan çift tabakalı dökme plak yöntemi uygulanmıştır. Bu işlem en az üç kez tekrarlanarak fajın saflaştırılması sağlanmıştır (Sambrook ve Russell, 2001).

3.2.2.5. İzole edilen Fajların Elektron Mikroskopunda incelenmesi

İzole edilen bakteriyofajların transmisyon elektron mikroskopunda (TEM) görüntülenmesi için Karunasagar ve diğ., (2007), tarafından belirtilen negatif boyama yöntemi kullanılmıştır. Pozitif kontrol olarak satın alımı gerçekleştirilen “λ” lambda faj *E.coli* 392 (ATCC 40236) örneği 1/10 oranında SM buffer ile sulandırılarak 0,20 µm göz açıklığına sahip ISOLAB marka şırınga filtre ile filtre edilerek kullanılmıştır. Balık patojenleri olan *A. hydrophila*, *Y.ruckeri* ve *E. coli* O157:H7 suşlarına karşı izole edilen farklı tiplerde ve farklı konsantrasyon yoğunluğuna sahip bakteriyofaj örnekleri (10^8 pfu/ml’den az olmayacak şekilde) plaklardan steril pipet ucu yardımı ile 500 µl SM buffer içeren ependorf tüplere toplanmış ve 1/10 oranında % 2,5 gluteraldehit tamponu ile karıştırılarak beş dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Fikse olan örneklerden 20 µl alınıp parafilm yüzey üzerinde karbon kaplı formvar marka 300 (mesh) ağ göz açıklığına sahip gridlerin üstüne eklenmiş ve 2-4 dakika bekletilerek kurutma işlemi gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.5). Daha sonra gridler 2 kez distile su ile yıkanmış ve yine parafilm yüzey üzerinde % 0,5’lik uranil asetat solüsyonu ile negatif boyanarak İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında bulunan TEM ile gözlemlenmiştir.



Şekil 3.5: Formvar marka karbon kaplı 300 mesh’lik grid.

4. BULGULAR

4.1. BAKTERİYOLOJİK KÜLTÜR BULGULARI

Çalışmada kullanılan *A. hydrophila*, *A. sobria*, *V. anguillarum*, *Y. ruckeri* ve *E. coli* O157:H7 suşlarının morfolojik özellikleri ve biyokimyasal test sonuçları Tablo 4.1’de ve besiyerinde üremiş bakterilerin koloni morfolojisi ve Gram boyamaları Şekil 4.1’de verilmiştir.

Akyazı’da bulunan ve hastalık çıkışının görüldüğü bir işletmeden yapılan bakteriyolojik ekimler sonucunda hasta balıkların iç organlarından izole edilen bakterilerin Gram negatif, hareketli çomaklar oldukları, biri sitokrom oksidaz pozitif reaksiyon verirken diğerinin negatif reaksiyon verdiği tespit edilmiştir. 37° C’de ürediğinde sitokrom oksidaz negatif özellik gösteren izolatanın hareket özelliğini kaybettiği, sitokrom oksidaz pozitif özellik gösterenin ise hareket özelliğini koruduğu gözlemlenmiştir.

Morfolojik ve biyokimyasal test sonuçlarına göre sitokrom oksidaz negatif özellik gösteren izolat *Y. ruckeri* (Apı 20E kodu: 530710057), sitokrom oksidaz pozitif özellik gösteren izolat ise *A. sobria* (Apı 20E kodu: 720913757) olarak teşhis edilmiştir.

4.2. BAKTERİYOFAJ İZOLASYONU İLE İLGİLİ PLAK ASSAY BULGULAR

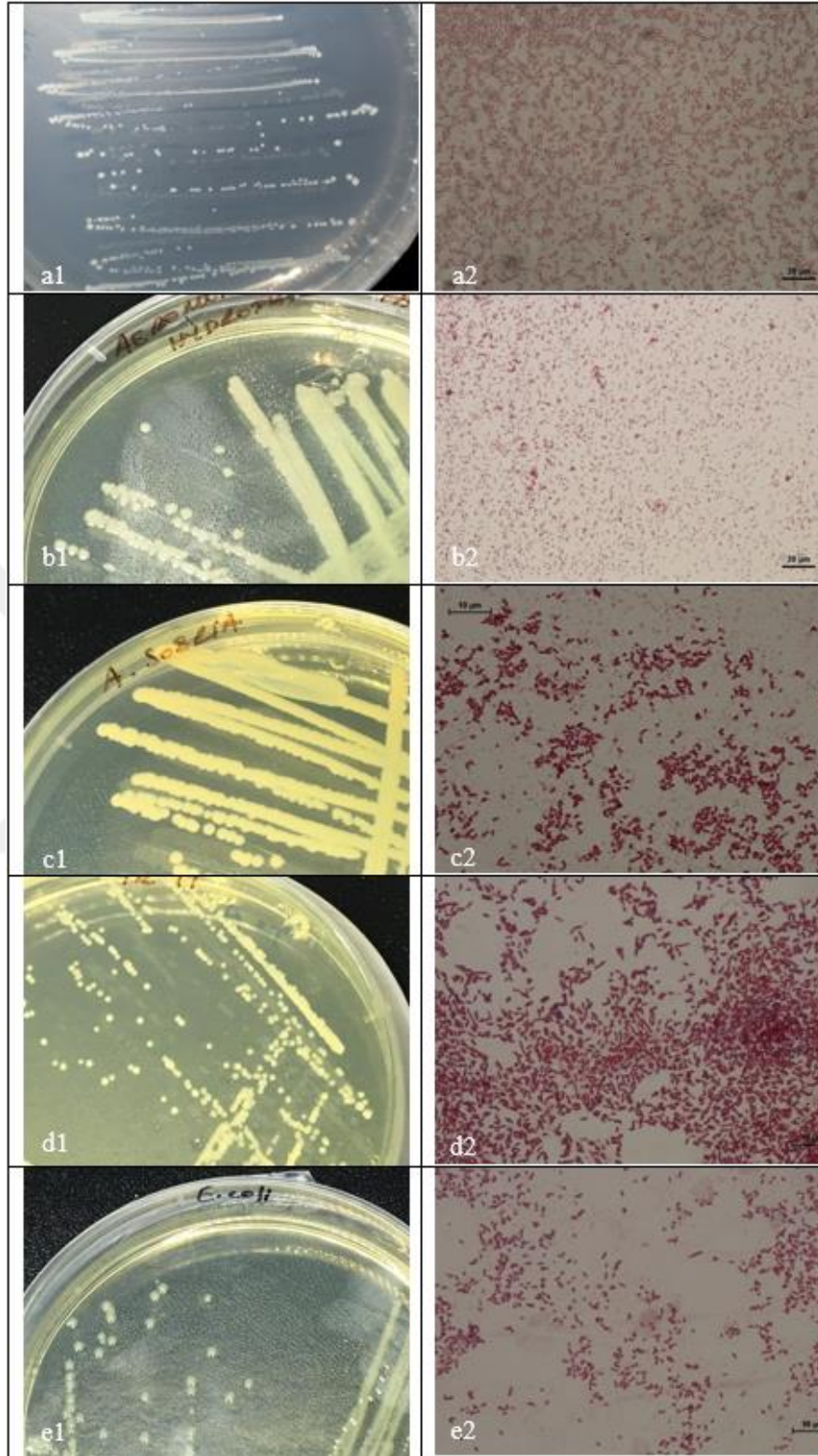
Didim’ de üretim yapan bir işletmeden (5) alınan su örneklerinde *V. anguillarum* izolatlarına karşı herhangi bir faj izole edilememiştir. Kurbağalı Dere/İstanbul (1) ve Adana Irmağı/Mersin (3) den alınan su örneklerinden kültür koleksiyonundan elde edilen *Y. ruckeri* (YR 11) ye karşı faj izolasyonu (Şekil 4.2), Kurbağalı Dere/İstanbul’dan (1) alınan su örneklerinden ise *A. hydrophila* ya karşı faj izolasyonu gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.3). Fakültemiz kanalizasyon sisteminden (7) alınan su örneklerinden *E. coli* suşuna karşı faj üretimi yapılmıştır (Şekil 4.4).

İstanbul Üniversitesi Su Bilimleri Fakültesi Sapanca İçsu Ürünleri Üretimi Biriminden (6) alınan su örneklerinden herhangi bir faj izolasyonu yapılamamıştır. Ayrıca alınan su örneklerinin hiç birisinden *A. sobria* suşuna karşı faj izole edilememiştir. Faj izole edilen su örneklerine ait bulgular Tablo 4.2’de verilmiştir.

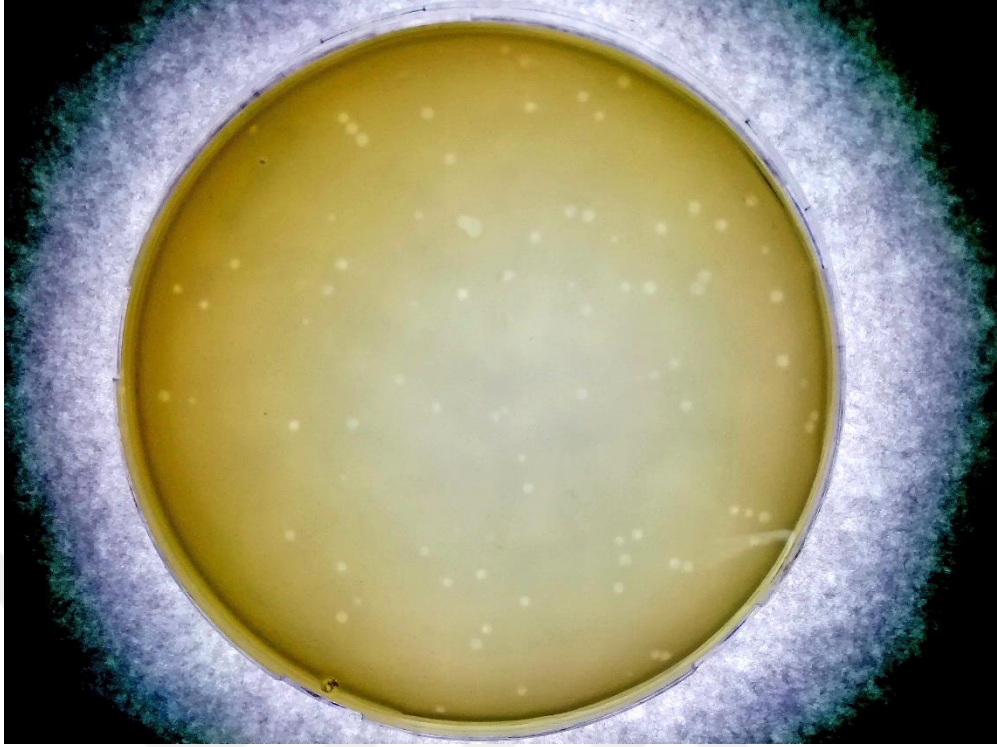
Tablo 4.1: Çalışmada kullanılan bakterilerin morfolojik ve biyokimyasal özellikleri.

Testler	<i>V. anguillarum</i>	<i>A. sobria</i>	<i>A. hydrophila</i>	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>Y. ruckeri</i>
Morfoloji	B	B	B	B	B
Gram Boyama	-	-	-	-	-
Hareket	+	+	+	+	+
Oksidaz	+	+	+	-	-
Katalaz	+	+	+	+	+
O/F	F	F	F	F	F
O/129 (150ig)	H	Di	Di	Te	Di
ONPG (β Galaktosidase)	+	+	+	+	-
Nitrat	+	+	+	+	+
Sitrat	-	+	+	-	+*
Arjinin dihidrolaz	+	+	+	-	-
Ornitin dekarboksilaz	-	-	-	-	+
Lizin dekarboksilaz	-	-	+	-	+
H ₂ S	-	-	-	-	-
İndol	-	-	+	+	-
MR	-	+	-	+	+
VP	+	+	+	-	-*
Üreaz	-	-	-	Te	-
Eskulin	-	-	+	-	-*
Jelatin	+	+	+	Te	De
Üreme					
37 °C	-	+	+	+	+
Mac Conkey Agar	+	+	+	+	+
0 NaCL (%)	-	+	+	+	+
1,5 NaCL (%)	+	+	+	+	+
3 NaCL (%)	+	+	-	Te	-
5 NaCL (%)	+	-	-	Te	-
7 NaCL (%)	+	-	-	Te	-
10 NaCL (%)	-	-	-	Te	-

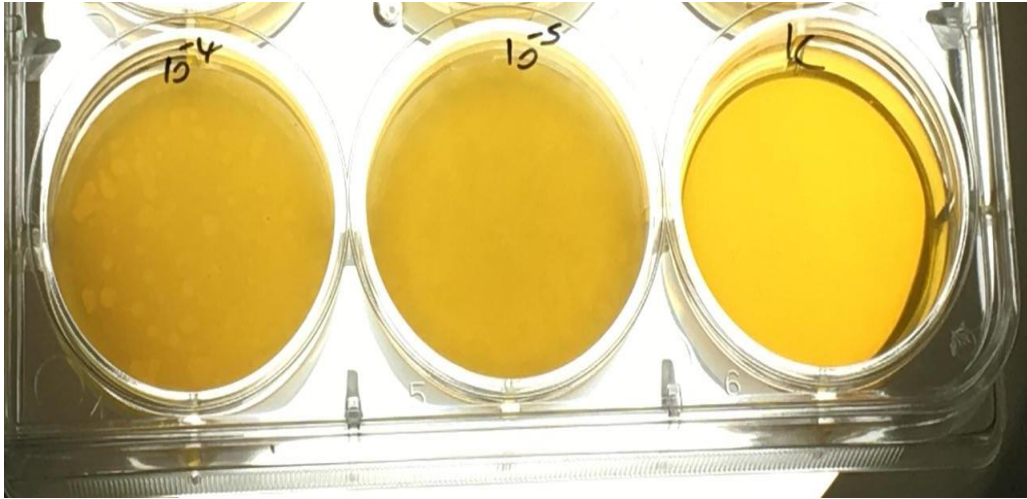
+ : Pozitif reaksiyon, -: Negatif reaksiyon, B: Basil, F: Fermentatif, H: Hassas, Di: Dirençli, Te: Tepkisiz, De: Değişken



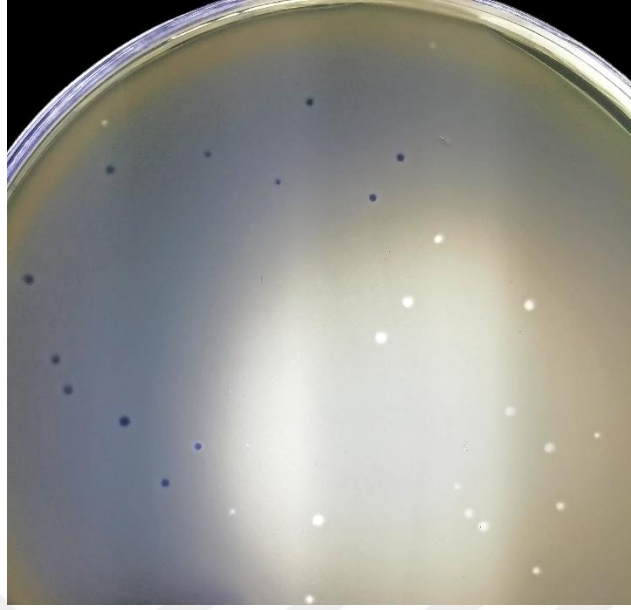
Şekil 4.1: Çalışmada kullanılan izolatların TSA ve Mueller Hinton Agar besiyerinde üremiş bakteriye ait koloni morfolojisi ve Gram boyamaları (a1,a2) *V. anguillarum*, (b1,b2) *A. hydrophila*, (c1,c2) *A. sobria*, (d1,d2) *Y. ruckeri*, (e1,e2) *E. coli* O157:H7.



Şekil 4.2: Kurbağalı Dere/İstanbul suyundan *Y. ruckeri* (YR 11) suşuna etkili fajın çift tabakalı agarda görüntüsü



Şekil 4.3: Kurbağalı Dere/İstanbul'dan alınan su örneklerinde *A. hydrophila* suşuna etkili fajın çift tabakalı agarda görüntüsü



Şekil 4.4: Fakültemiz kanalizasyon sisteminden alınan su örneklerinde *E. coli* suşuna etkili fajın çift tabakalı agarda görüntüsü

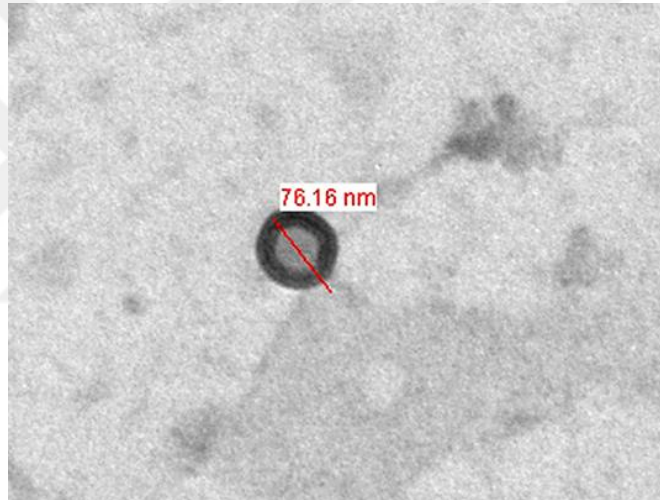
Tablo 4.2: Faj izolasyonu yapılan su örneklerine ait bulgular.

İzolat Adı	Kültür Koleksiyon Kodu	Alınan Su Örnekleri						
		1	2	3	4	5	6	7
<i>Y. ruckeri</i>	YR 2	-	-	-	-	-	-	-
<i>Y. ruckeri</i>	YR 3	-	-	-	-	-	-	-
<i>Y. ruckeri</i>	YR 4	-	-	-	-	-	-	-
<i>Y. ruckeri</i>	YR7	-	-	-	-	-	-	-
<i>Y. ruckeri</i>	YR8	-	-	-	-	-	-	-
<i>Y. ruckeri</i>	YR9	-	-	-	-	-	-	-
<i>Y.ruckeri</i>	YR11	+	-	+	-	-	-	-
<i>Y. ruckeri</i>	YR12	-	-	-	-	-	-	-
<i>Y. ruckeri</i>	YR16	-	-	-	-	-	-	-
<i>Y. ruckeri</i>	YR17	-	-	-	-	-	-	-
<i>Y. ruckeri</i>	M16	-	-	-	-	-	-	-
<i>Y. ruckeri</i>	MKD1	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. hydrophila</i>	TODM8	+	-	-	-	-	-	-
<i>V. anguillarum</i>	HVA	-	-	-	-	-	-	-
<i>A.sobria</i>	PQ3	-	-	-	-	-	-	-
<i>E.coli</i> O157:H7	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>A.sobria</i>	*	-	-	-	-	-	-	-
<i>Y. ruckeri</i>	*	-	-	-	-	-	-	-

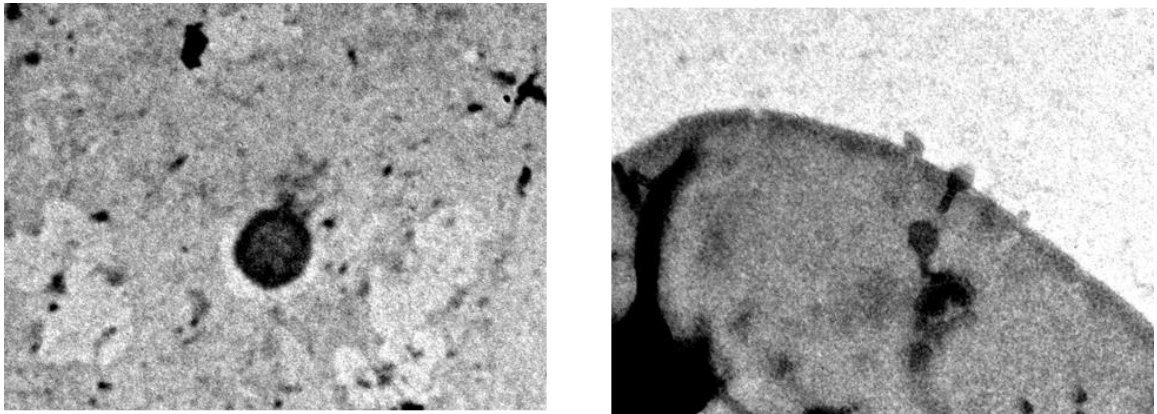
*:Yeni izole edilen, YR:*Yersinia ruckeri*, + Etkili bakteriyofaj üretimi gerçekleştirilen, - Etkili bakteriyofaj Üretimi gerçekleştirilmeyen. 1: Kurbağalı Dere/ İstanbul Kadıköy, 2: Berdan Irmağı/Mersin Tarsus, 3:Adana Irmağı/Mersin Tarsus, 4:Akyazı/Sakarya'da bulunan balık üretim tesisi, 5: Didim/Aydın'da bulunan balık üretim tesisi, 6: İstanbul Üniversitesi Su Bilimleri Fakültesi Sapanca İçsu Ürünleri Üretimi Araştırma ve Uygulama Birimi, 7: İ.Ü. Su Bilimleri Fakültesi kanalizasyon sistemi

4.3. BAKTERİYOFAJ MORFOLOJİSİ İLE İLGİLİ ELEKTRON MİKROSKOPİ BULGULARI

Kurbağalı dere den alınarak kloroforma tabi tutulmuş su örneklerinden *A. hydrophila*'ya karşı üretilmiş olan bakteriyofajın tek tip kuyuksuz, polihedral kenarlı ve kapsitli 70-80 nanometre çapında olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.5). Kurbağalı dere den ve Adana Irmağı/Mersinden alınan su örneklerine hem kloformsuz hemde kloroformlu yöntem uygulanan *Y. ruckeri* izolatlarından sadece YR11 suşuna karşı bakteriyofaj izolasyonun da gerçekleştirilen çift tabakalı plak assay deki plaklardan alınan örneklerde ise birden fazla tipde ve şekilde bakteriyofaj izolasyonu gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.6). Elde edilen fajlardan bir tanesi kuyuksuz, diğer bakteriyofajın ise kısa kuyuklu olduğu tespit edilmiştir.

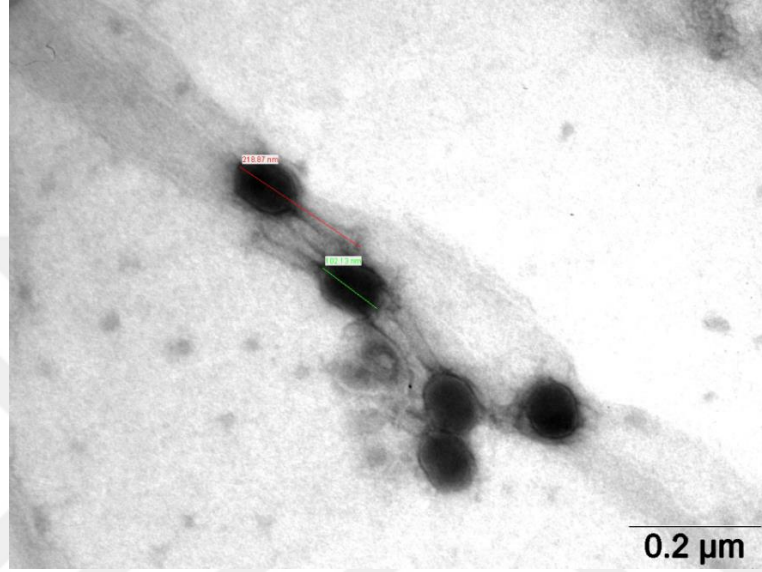


Şekil 4.5: *A. hydrophila*'ya karşı izole edilen fajın elektron mikroskopta görüntüsü

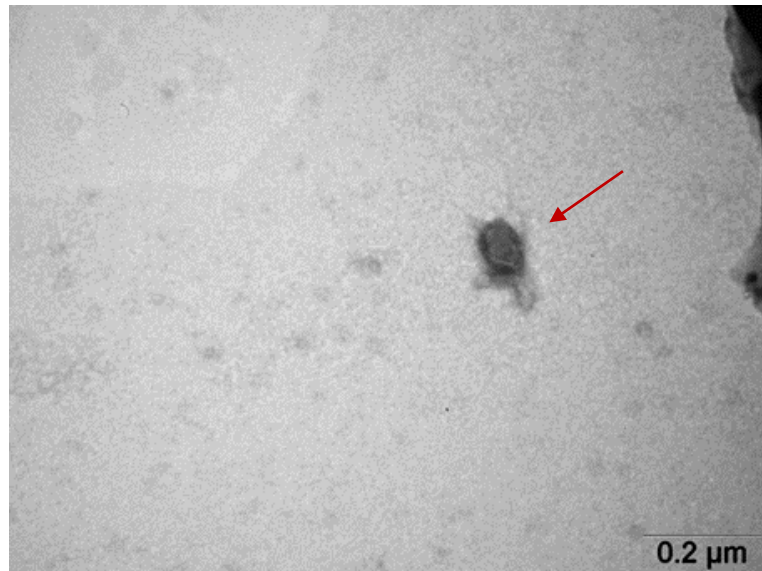


Şekil 4.6: YR11 suşuna tutunmuş farklı kuyruk tiplerine sahip fajlar x150.000.

Fakültemiz kanalizasyon suyundan alınan su örneklerinden *E. coli* (O157:H7)'ye karşı bakteriyofaj izolasyonunda ise tek tipte, kuyruklu, polihedral kenarlı ve kapsit çapı yaklaşık 100 nanometre, kuyruk uzunluğu 118 nanometre olan bakteriyofaj izole edilmiştir (Şekil 4.7). Pozitif kontrol olarak kullanılan “λ” lambda fajın tipik kuyruklu lambda faj görüntüsü x100.000 büyütmede saptanmıştır (Şekil 4.8).



Şekil 4.7: *E. coli* O157:H7'ye karşı izole edilen fajın elektron mikroskopta görüntüsü.



Şekil 4.8: *E. coli* 392 (ATCC 40236) ye karşı pozitif kontrol olarak kullanılan “λ” lambda fajın elektron mikroskopta görüntüsü x100.000.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Fajların ilk tanımlanmasından yaklaşık 20 yıl sonra ilk antibiyotik penisilin bulunmuş ve bu nedenle bakteriyofaj çalışmaları yavaşlamıştır. Ancak son yıllarda birçok patojen organizmada oluşan antimikrobiyal direnç araştırmacıların bu asırlık yaklaşımı yeniden düşünmelerine ve tedavisi zor olan bakteriyel patojenlere karşı yeni ve potansiyel olarak uygulanabilir bir tedavi seçeneği olarak faj terapisine yönelmelerine neden olmuştur.

Bakteriyofajlar, Polonya, Gürcistan ve Rusya'da insanlarda bakteriyel enfeksiyonları kontrol etmek için araştırılmış ve kullanılmıştır. Son zamanlarda, Fransa, Belçika, İsviçre (Phagoburn projesi) ve Amerika Birleşik Devletinde de çalışmalar başlanmıştır (Reardon, 2014; Cisek ve diğ., 2017). Bakteriyel enfeksiyonlarda kullanılan antibiyotiklere karşı bakterilerde direnç gelişmesi su ürünleri sektöründe de balık hastalıklarını önlemek için alternatif bir tedavi yöntemi olan bakteriyofaj uygulanmalarının başlamasına neden olmuştur. (Mishra ve diğ., 2012). Bazı bakteriyel balık patojenleri (*V. parahaemolyticus*, *V. anguillarum*, *V. harveyi*, *V. vulnificus*, *P. aeruginosa*, *P. plecoglossicida*, *F. columnare*, *F. psychrophilum*, *E. ictaluri*, *E. tarda*, *A. hydrophila*, *A. salmonicida*, *S. iniae*, *L. garvieae*, *Y. ruckeri*) üzerine fajların etkisi *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar ile gösterilmiştir (Madhusudana ve Lalitha, 2015).

Yapılmış olan bu tez çalışmasında, farklı kaynaklardan alınan su örneklerinden balık patojeni *A. sobria*, *A. hydrophila*, *Y. ruckeri*, *V. anguillarum* ve insan patojeni olan *E. coli* O-157:H7 suşuna özgü faj izolasyonu çalışmaları yürütülmüştür. Kurbağalıdere/İstanbul'dan alınan su örneklerinden *A. hydrophila* ve *Y. ruckeri*'ye; Adana Irmağı/Mersin'den alınan su örneklerinden *Y. ruckeri*'ye; Fakültemiz kanalizasyon sisteminden alınan su örneğinden ise *E. coli* O-157:H7 suşuna karşı faj izolasyonu gerçekleştirilmiştir. İzole edilen fajlar, Geçirmeli Elektron Mikroskobu (TEM) ile görüntülenmiştir.

Y. ruckeri'nin neden olduğu Yersiniozis hastalığı (Enteric Redmouth Disease (ERM)) ülkemizde ve dünyada 1980-1990'lı yıllarda salmon ve alabalık kültür balıkçılığında önemli zararlar vermiştir. Daha sonraki yıllarda aşı kullanımına bağlı olarak etkisini azaltmış ancak 2010 yılı ve sonrası tekrar işletmelerde önemli kayıplara neden olmaya başlamıştır. ERM nin tedavi ve kontrolünde çoğunlukla antimikrobiyaller, aşular ve probiyotikler kullanılmaktadır. Diğer bakteriyel balık patojenlerinde olduğu gibi *Y. ruckeri*'nin bazı suşlarının sülfamerazin, tetrasiklin ve oksitetrasikline karşı direnç geliştirdikleri bilinen bir gerçektir (Grandis ve

Stevenson, 1985; Post, 1987). Araştırmalar *Y. ruckeri*'nin oksolinik asid, oksitetrasiklin, sulfonamide direnç kazanabileceğini gösterilmiştir (Rodgers, 2001). Ülkemizde yapılmış olan bir çalışmada farklı bölgelerden izole edilmiş 142 *Y. ruckeri* izolatının % 80' inden fazlasının sülfametoksazol-trimetoprim (SXT), florfenikol (FFC) ve tetrasikline hassas olduğu ve bütün izolatların sülfametoksazole dirençli olduğu rapor edilmiştir (Duman ve diğ., 2017). Avrupada *Y. ruckeri*'ye karşı etkili fajın izolasyonu yapılmış ve ticari olarak kullanımı için çalışmalar devam etmektedir. Çalışmamızda kullanılan 13 adet balık patojeni *Y. ruckeri* izolatının sadece birine karşı etkili iki farklı faj Kurbağalıdere/İstanbul ve Adana Irmağı/Mersin'den alınan su örneklerinden elde edilmiştir. Çift tabakalı dökme plak yönteminde opak, şeffaf, büyüklü, küçüklü olmak üzere farklı tip ve şekillerde plak oluşumu gözlenmiştir.

Hareketli *Aeromonas* türleri (*A. hydrophila*, *A. sobria*, *A. caviae*) ekosistemin doğal üyeleridir. Deniz ve tatlı sularda bol miktarda bulunurlar. Balık ve insan için fırsatçı patojenlerdir. Özellikle su sıcaklığındaki artışın kültür balıklarında Hareketli *Aeromonas* Septisemisinin ortaya çıkmasına neden olduğu bilinmektedir. Bu hastalık Türkiye'de ilk kez 1991 yılında Karadeniz'de kültürü yapılan Atlantik salmonlarında rapor edilmiştir. Bu tarihten itibaren hareketli *Aeromonas* pek çok balık patojeni ile birlikte izole edilerek tanımlanmıştır (Candan ve Karataş 2010). Hastalığın kontrolünde koruyucu önlemlerin alınması çok önemlidir ve Antibiyotikler tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Ancak yapılmış olan son çalışmalar hareketli *Aeromonas* izolatlarının kültür balıkçılığında kullanılan antimikrobiyallere karşı direnç geliştirdiğini göstermiştir (Onuk ve diğ. 2017; Scarano ve diğ., 2018, Le ve diğ., 2018). Le ve diğ., (2018) yapmış oldukları çalışmada kullanılan tüm *A. hydrophila* izolatların çoklu antimikrobiyal direnç gösterdiği ve ayrıca izole ettikleri fajların *A. hydrophila* enfeksiyonun tedavi etmede kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Yapılmış olan bu tez çalışmasında kullanılan bir adet *A. hydrophila* izolatı için tek tip kuyuksuz faj izolasyonu Kurbağalıdere/İstanbul'dan alınan su örneğinden gerçekleştirilmiştir. Le ve diğ. (2018) tarafından bildirilen sonuçlara benzer şekilde bizim çalışmamızda da çift tabakalı dökme plak yönteminde opak iğne ucu gibi küçük (~0,1 mm çapında) plaklar oluşturduğu gözlemlenmiştir. *A. sobria* izolatlarına karşı alınan tüm su örneklerinden ise herhangi bir bakteriyofaj elde edilememiştir.

Ülkemizde balık patojenlerine karşı etkili faj izolasyonunun yapıldığı tek bir çalışma bulunmaktadır. Yıldızlı, (2015) hasta levrek balığı dokularından izole ettikleri *V. anguillarum*

suşlarına özgü farklı boyut ve büyüklükte faj izolasyonu gerçekleştirmişlerdir. Yapmış olduğumuz bu tez çalışması sırasında alınan su örneklerinin hiçbirinden *V. anguillarum* suşuna özgü faj izole edilememiştir.

Bakteriyofajlar her yerde çok sayıda bulunmalarına rağmen suşa özgü oldukları için spesifik bir suşa karşı bakteriyofaj izolasyonu çok zordur ve izolasyon için seçilecek metod çok önemlidir. Faj izolasyon yöntemi Felix d'Herelle tarafından geliştirildiğinden buyana çok fazla değişiklik göstermemiştir. Tan ve diğ. (2014) yapmış oldukları çalışmada farklı izolasyon protokolleri kullanarak 37 adet *Vibrio* sp. (*V. anguillarum*, *V. cyclitrophicus*, *V. splendidus*, *Vibrio* sp.) izolatına karşı Myoviridae, Podoviridae ve Siphoviridae familyalarına ait 10 adet Vibriofaj izolasyonu gerçekleştirmişlerdir. İlk izolasyon protokolünde su örneği alındıktan sonra filtre edilerek eşit hacimde bakteri ve besiyeri ile karıştırılmış, ikinci protokolde ise herhangi bir filtrasyon işlemi yapılmadan eşit hacimde besiyeri ile karıştırılmıştır. İki protokolde de örnekler 24 saat oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda kloroform ile muamele edilmiştir. Birinci protokolden 4, ikinci protokolden 6 farklı Vibriofaj izolasyonu gerçekleştirmişlerdir. Yapılmış olan bu tez çalışmasında Tan ve diğ. (2014) nin kullanmış olduğu ikinci protokol uygulanmış ancak inkübasyon sonunda su örneği ikiye bölünerek bir gruba kloroform eklenmiş diğer gruba herhangi bir işlem uygulanmamıştır. Kloroform eklenmiş gruptan bakteriyofaj izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Faj izolasyonu sırasında su örneğinin filtre edilmesi ve kloroforma tabi tutulmasının faj kaybına neden olabileceği rapor edilmiştir (Middelboe ve diğ., 2010).

Yapılmış olan bu araştırmada örnekleme bölgeleri seçilirken daha önceden hastalık çıkışlarının görüldüğü deniz ve tatlısu balığı yetiştiriciliğinin yapıldığı işletmeler seçilmiştir. Özellikle Akyazı da bulunan alabalık üretim tesisinden hastalık çıkışlarının görüldüğü sırada su örneği alınmış ve hasta balıklardan *Y. ruckeri* ve *A. sobria* izole edilmiş olmasına rağmen herhangi bir faj izole edilememiştir. Benzer şekilde Tan ve diğ. (2014) su örneğinin alındığı işletmelerde hastalık görülse bile faj izole edemediklerini rapor etmişlerdir. Fajların her zaman konak bakteriler ile aynı ortamda bulunamayacağı ve faj yoğunluğunun hastalık görülen işletmelerde daha düşük olabileceği bildirilmiştir.

Çalışmamızda balık patojeni *Y. ruckeri* ve *A. hydrophila* ya özgü izole edilen fajların ilk izolasyonları gerçekleştirilmiş ancak daha sonrasında çoğaltımları ve saf kültürleri elde edilememiştir. Fajların başlangıçta litik etki gösterebileceği ve ilk lizizi takiben bakterilerin faja

karşı farklı korunma mekanizmaları geliştirebilecekleri diğer araştırmacılar tarafından da rapor edilmiştir (Tan ve diğ. 2014).

Yapılmış olan bu tez çalışmasında kanalizasyon suyunda daha çok sayıda bakteriyofajının olabileceği göz önünde bulundurularak izolasyon metodlarının standartlaştırmak için *E.coli* O-157:H7 suşu kullanılmıştır. Sonuç olarak yüksek yoğunlukta faj içeren kanalizasyon suyu örneğinden *E.coli* O-157:H7 ve Kurbağalı Dere/İstanbuldan alınan su örneğinden *Y. ruckeri* (YR11) ve *A. hydrophila* ayrıca Adana Irmağı/Mersinden alınan su örneğinden ise *Y. ruckeri* (YR 11) fajları izole edilmiştir. Bu suşa özgü izole edilen fajın diğer balık patojenlerine özgü fajlara göre hem daha hızlı üreme gösterdiği hemde daha büyük, belirgin çaplı plaklar oluşturduğu tespit edilmiştir.

Ülkemizde kültür balıkçılığının avcılık miktarına yaklaştığı ve ileriki yıllarda avcılık yoluyla gelen üretimi geçeceği gerçeğinden yola çıkarak antibiyotik tedavisine alternatif olarak düşünülen bakteriyofaj uygulamaları için bir an önce faj izolasyon çalışmalarına başlanması önem arz etmektedir. Sonuç olarak yapılmış olan bu tez çalışmasında ülkemizde görülen önemli balık patojenlerinden *Y. ruckeri* ve *A. hydrophila*'ya özgü faj izolasyonu gerçekleştirilmiş ve faj çalışmalarında kullanılacak metodların laboratuvarımızda denemeleri yapılarak daha sonraki çalışmalar için temel oluşturulmuştur.

KAYNAKLAR

- Abdul-Hassan, H. S., El-Tahan, E., Massoud, B., Gomaa, R., (1990). Bacteriophage therapy of *Pseudomonas burn* wound sepsi, *Ann. Medit. Burn Club*, 3, 262-264.
- Abedon, S.T., Kuhl, S.J., Blasdel, B.G., Kutter, E.M., (2011). Phage treatment of human infections, *Bacteriophage*, 1:2, 66-85.
- Ackermann, H.-W.. (2007). 5500 Phagesexamined in the electron microscope. *Arch.Virol.* 152:277–243.
- Akaylı, T., (2001), Kültür Çipura balıklarında (*Sparus auratus*, L .1758) Vibriosis'in ELISA ve bakteriyolojik yöntemlerle teşhisi, *İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Doktora Tezi.
- Akaylı, T., Çanak, O., Başaran, B., (2011) Gökkuşığı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) görülen *Aeromonas schubertii* enfeksiyonu üzerine bir çalışma, *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 4(1): 99- 106.
- Akaylı, T., Çolak, H.S., Yardımcı, R.E., (2009). Bacterial Pathogens Of Gilt Heat Sea Bream, *Indian Vet. Journal*, vol.86, pp.1294-1295.
- Akaylı, T., Erkan, M.B., Ürkü, Ç., Çanak, Ö., Yardımcı, R.E., (2015). Interaction of Gut Flora and Bacterial Pathogens of Cultured Common Dentex (*Dentex dentex*), *Israeli JOURNAL Of Aquaculture-Bamidgeh*, vol.67, pp.1-6.
- Akaylı, T., Timur, G., (2004). Yavru alabalıklarda (*Oncorhynchus mykiss*) pseudomonas septisemi üzerinde bir çalışma, *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 30 (1): 121-131.
- Akaylı, T., Urku, C., Başaran, B., (2011). A New Pseudomonas Species Observed in Cultured Young Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykis* Walbaum, 1792): *Pseudomonas plecoglossicida*, *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 4 (1), 107-111.
- Akaylı, T., Urku, C., Başaran, B., (2011). Kültür balıklarında *Staphylococcus cohnii* subsp. *cohnii* enfeksiyonu, *Istanbul University Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 26(1): 1-12.
- Akaylı, T., Ürkü, Ç., Yardımcı, R.E., Çanak, Ö., (2019).Bacterial Infection in Cultured Common Dentex (*Dentex dentex*, L. 1758), *ÇOMU Journal of Marine Science and Fisheries*, cilt.2, ss.132-138.
- Akgün, H., (2004). Türkiye'de Kültür Balıkçılığı Sorunları ve Çözüm Önerileri, *Cine Tarım Dergisi*, sayı:60.
- Aksit, D., Kum, C., (2008). Gökkuşığı alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792)'nda sık görülen patojenik mikroorganizmaların tespiti ve antibiyotik duyarlılık düzeylerinin belirlenmesi, *YYU Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 19(1): 1-7.

- Akşit, D., (2016), Balık Yetiştiriciliğinde Antibakteriyel Direnç ve Önemi, *Türkiye Klinikleri Veteriner Bilimleri-Farmakoloji ve Toksikoloji - Özel Konular*, 2(1), 47-54.
- Altınok, I., Balta, F., Capkin, E., Kayis, S., (2007). Disease of rainbow trout caused by *Pseudomonas luteola*, *Aquaculture*, 273:393-397.
- Avsever, M.L., Onuk, E.E., Turk, N., Tunaligil, S., Eskiizmirli, S., Incoglu, S. and Yabanli, M., (2012). Pasteurellosis cases in sea bass and sea bream cultured in the Aegean region and other bacteria isolated from these cases, *Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 34(48): 9-16.
- Aydın, S., Ciltas, A., Yetim, H., Akyurt, I., (2005). Clinical, pathological and haemato-logical effects of *Micrococcus luteus* infections in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss Walbaum*), *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 4(2):167-174.
- Aydın, S., Gültepe, N., Çiltaş, A., (2005). Çanakkale İlindeki Bir Gökkuşuğu Alabalığı (*oncorhynchus mykiss walbaum*) İşletmesinde *Pseudomonas* sp. Enfeksiyonu, *DergiPark*, 36(1), 36-49.
- Aydin, E. (2000a). Investigation of high mortalities in eyedeggs and fry of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss Walbaum*) and Brown trout (*Salmo trutta*), *Turkish Journal of Marine Sciences*, 6(1): 245-254.
- Baran, I., Timur, M., Aydın, N., İstanbulluoğlu, E., Aydintuğ, M.K., (1980). Çifteler-Sakarya başı balık üretim ve araştırma istasyonunda, alabalıklarda (*Salmo gairdneri*) görülen bakteriyel hemorajik septisemi hastalığı üzerine incelemeler, *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 27(1): 467- 473.
- Barton, B.A., Iwama, G.K., (1991). Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids, *Annual Review of Fish Diseases*, 1(6), 3–26.
- Bogovazova, G.G., Voroshilova, N.N., Bondarenko, V.M., (1991). The efficacy of *Klebsiella pneumoniae* bacteriophage in the therapy of experimental *Klebsiella* infection. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii, immunobiologii*, (4), 5-8.
- Brunoghe, R., Maisin, J., (1921). Essais de therapeutique au moyen du bacteriophage du staphylocoque, *Compt Rend Soc Biol*, 85, 1029-1121.
- BSGM, (2016). Su Ürünleri İstatistikleri, *GTHB Balıkçılık ve Su Ürünleri Genel Müdürlüğü*.
- Buller, N.B., (2004). *Bacteria from Fish and Other Aquatic Animals: A Practical Identification Manual*, Wallingford, CABI Publishing.
- Cabello, F.C., (2006). Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment, *Environmental Microbiology*, 8(7), 1137 – 1144.
- Candan, A.A., (1993). Çipura (*Sparua aurata* L. 1758) Balıklarında *Vibrio anguillarum* Enfeksiyonu. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 23, 25-27.

- Candan, A.A., Karataş, S., (2010). Balık Sağlığı, Kalmak Ofset Matbaacılık, İstanbul, ISBN: 978-605-88665-0-8.
- Carlton, R.M., (1999). Phage therapy: hast history and future prospects, *Arch Immunol Ther Exp*, 47, 267-274.
- Carter, J., Saunders, V., (2007). Virology principles and applications, *School of Biomolecular Sciences, Liverpool John Moores University*, John Wiley & Sons Ltd, ISBNs: 978-0-470-02386-0 (HB); 978-0-470-02387-7 (PB).
- Castillo, D., Higuera, G., Villa, M., (2012). Diversity of *Flavobacterium psychrophilum* and the potential use of its phages for protection against bacterial cold water disease in salmonids. *Journal Fish Disease*, 35:193–201.
- Cisek, A.A., Dąbrowska, I., Gregorczyk, K.P. Wyżewski, Z., (2017). Phage Therapy in Bacterial Infections Treatment: One Hundred Years After the Discovery of Bacteriophages, *Current Microbiology*, 74: 277-283.
- Colquhoun, D.J., Aarflot, L., Melvold, C.F., (2007). gyrA and parC Mutations and associated quinolone resistance in *Vibrio anguillarum* serotype O2b strains isolated from farmed Atlantic cod (*Gadus morhua*) in Norway, *Antimicrob Agents Chemother*, 51(7),2597-2599.
- Cooper, C.J., Khan Mirzaei, K., Nilsson, A.S., (2016). Adapting drug approval pathways for bacteriophage-based therapeutics. *Front. Microbiol.* 7, 1209.
- Crothers-Stomps, C., Hoj, L., Bourne, D.G., Hall, M.R., Owens, L., (2010). Isolation of lytic bacteriophage against *Vibrio harveyi*. *J. Appl.Microbiol.* 108, 1744–1750.
- Çağırğan, H., (1993a). Kültürü Yapılan Çipura (*Sparus aurata*) ve Levrek (*Dicentrarchus labrax*) Balıklarında Görülen Bakteriyel Hastalıkların Teşhisi ve Tedavisi Üzerinde Bir Araştırma, *Ege Ün. Fen Bil. Ens.*, Doktora tezi, Kod no: 10-777, 1800, 1-110 .
- Çağırğan, H., (1993b).The first isolation of *Pasteuralla piscicida* from cultured seabream (*Sparus aurata*) in Turkey, *Hayvancılık Araştırma Dergisi*, 3 (2), 82-83.
- Çağırğan, H., Yürekli Türk, O., (1996). Kültürü yapılan çipura (*Sparus aurata*) ve levrek (*Dicentrarchus labrax*) balıklarında görülen bakteriyel hastalıkların teşhis ve tedavisi üzerine bir araştırma. *Bornova Vet. Kontr. Ve Arast. Enst. Md. Derg.* 21: 113-122.
- Çanak, Ö., Akaylı, T., (2018). Bacteria Recovered from Cultured Gilt-Head Seabream (*Sparus aurata*) and their Antimicrobial Susceptibilitie, *European Journal of Biology*, vol.77, pp.11-17.
- D'Herelle, F., (1917). Sur un microbe invisible antagoniste des bacilles dysentériques. *CR Acad. Sci. Paris*, 165, 373-375.
- Dadar, M., Dhama, K., Vakharia, V.N., Hoseinifar, S.H., Karthik, K., Tiwari, R., Khandia, R., Munjal, A., Salgado-Miranda, C., Joshi, S.K., (2017). Advances in Aquaculture Vaccines

- Against Fish Pathogens: Global Status and Current Trends, *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 25:3, 184-217.
- Dallaire-Dufresne, S., Tanaka, K.H., Trudel, M.V., Lafaille, A., Charett, S.J., (2014). Virulence, genomic features, and plasticity of *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*, the causative agent of fish furunculosis, *Veterinary Microbiology*, 169(1-2), 1–7.
- David W. Verner–Jeffreys, D.W., Algoet, M., Pond, M.J., Virdee, H.K., Bagwell, N.J., Roberts, E.G., (2007). Furunculosis in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) is not readily controllable by bacteriophage therapy, *Aquaculture*, 270, 475–484.
- De Grandis S.A., Stevenson, R.M.W., (1985). Antimicrobial susceptibility patterns and R plasmid-mediated resistance of the fish pathogen *Yersinia ruckeri*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 27, 938–942.
- D'Herelle, F., (1931). Bacteriophage as a Treatment in Acute Medical and Surgical Infections, *Bulletin of the New York Academy of Medicine*, 7(5), 329-348.
- Diana, J.S., Egna, H. S., Chopin, T., Peterson, M. S., Cao, L., & Pomeroy, R., (2013). Responsible aquaculture in 2050: Valuing local conditions and human innovations will be key to success, *BioScience*, 63(4), 255–262.
- Didinen, B.I., Kubilay, A., Diler, O., Ekici, S., Onuk, E.E., Findik, A., (2011). First isolation of *Vagococcus salmoninarum* from cultured rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, walbaum) broodstocks in Turkey, *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 31 (6): 235-243.
- Didinen, B.I., Onuk, E.E., Öztürk, T., Metin, Seçil., Öz, M., Çayli, Ö., Kubilay, A., (2016). First report of *Chryseobacterium* sp. From koi (*Cyprinus carpio*) in Turkey, *In The Israeli journal of aquaculture = Bamidgeh* 68.
- Diler, O., Altun, S., Adiloglu, A., Kubik, A., Isikli, B.T., (2002). First occurrence of streptococcosis affecting farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey, *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 22 (1): 21.
- Duman, M., Altun, S., Cengiz, M., Saticioglu, I.B., Buyukekiz, A.G., Sahinturk, P., (2017). Genotyping and antimicrobial resistance genes of *Yersinia ruckeri* isolates from rainbow trout farms. *Dis Aquat Organ.* 125(1): 31–44.
- Eaton, M. D., Bayne-Jones, S., (1934). Bacteriophage therapy: review of the principles and results of the use of bacteriophage in the treatment of infections, *Journal of the American Medical Association*, 103(23), 1769-1776.
- Elliott, L., (2014). BACTERIOPHAGE THERAPY IN AQUACULTURE – FRIEND OR FOE? *Conference Paper World Nutrition Forum* 8 pp.
- FAO, (2016). Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), *The State of World Fisheries and Aquaculture*, <http://www.fao.org/3/ai5555e.pdf>.

- Feiner, R., Argov, T., Rabinovich, L., Sigal, N., Ilya Borovok, I., Herskovits, A.A., (2015). A new perspective on lysogeny: prophages as active regulatory switches of bacteria, *Nature Reviews Microbiology*, 13(10), 641-650.
- Fiers, W., Contreras, R., Duerinck, F., Haegeman, G., Iserentant, D., Merregaert, J., Volckaert, G., (1976). Complete nucleotide sequence of bacteriophage MS2 RNA: primary and secondary structure of the replicase gene, *Nature*, 260(5551), 500.
- Guttman, B., Kutter, E., Raya, R., Rrüssow, H., (2004). Basic Phage Biology, *Bacteriophages: Biology and Applications*, 29-38.
- Hankin, E. H., (1896). L'action bactericide des eaux de la Jumna et du Gange sur le vibron du cholera, *Ann. Inst. Pasteur*, 10(5), II.
- Haq, I.U., Chaudhry, W.N., Akhtar, M.N., Andleeb, S., Qadri, I., (2012). Bacteriophages and their implications on future biotechnology, *Virology Journal*, 9:9 <http://www.virologyj.com/content/9/1/9>.
- Higuera, G., Bastías, R., Tsertsvadze, G., Romero, J., Espejo, R.T., (2013). Recently discovered *Vibrio anguillarum* phages can protect against experimentally induced vibriosis in Atlantic salmon, *Salmo salar*, *Aquaculture* 392–395, 128–133.
- Hoang, H.A., Xuan, T.T.T., Nga, P.L., Oanh, D. T. H., (2019). Selection of Phages to Control *Aeromonas hydrophila* – An Infectious Agent in Striped Catfish. *Biocontrol Science*, Vol. 24, No. 1, 23–28.
- Imbeault, S., Parent, S., Lagacé, M., Uhland, C.F., Blais, J.-F., (2006). Using bacteriophages to prevent furunculosis caused by *Aeromonas salmonicida* in farmed brook trout, *J. Aquat. Anim. Health*, 18,203–214.
- Jun, J.W., Kim, H.J., Yun, S.K., Chai, J.Y., Park, S.C., (2014). Eating oysters with out risk of vibriosis: application of a bacteriophage against *Vibrio parahaemolyticus* in oysters, *Int. J.Food.Microbiol.* 188, 31–35.
- Jun, J.W., Kim, H.J., Shin, S.P., Han, J.E. , Chai, J.Y., Park, S.C., (2013). Protective effects of the *Aeromonas* phages pAh1-C and pAh6-C against mass mortality of the cyprinid loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) caused by *Aeromonas hydrophila*, *Aquaculture* 416–417, 289–295.
- Kaczkowski, H., Weber-Dabrowska, B., Dabrowski, M., Zdrojewicz, Z., Cwioro, F., (1990). Use of bacteriophages in the treatment of chronic bacterial diseases, *Wiadomosci lekarskie* (Warsaw, Poland: 1960), 43(3-4), 136-141.
- Karatas, S., Candan, A.A., Demircan, M.D., (2005). A typical *Aeromonas* Infection in Cultured Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) in the Black Sea, *The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgeh*, 57(4), 255-263.
- Karatas, S., Ercan, M.D., Steinum, T.M., Turgay, E., Memis, D., Candan, A.A., (2010). First isolation of a *Flavobacterium johnsoniae* like bacteria from cultured Russian sturgeon in Turkey, *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9(14): 1943-1946.

- Karataş Steinum, S., Yardimci, R.E., Turgay, E., (2018). First report of *Chryseobacterium balustinum* infection in cultured rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey, *Flavobacterium, Nara, JAPONYA*, pp.44-44.
- Karunasagar, I., Shivu, M.M., Girisha, S.K., Krohne, G., Karunasagar, I., (2007). Biocontrol of pathogens in shrimps hatcheries using bacteriophages, *Aquaculture*, 268; 288-292.
- Karunasagar, I., Vinod, M.G., Bob Kennedy, M.D., Vijay, A., Deepanjali, A., Umesh, K.R., Karunasagar, I., (2005). Biocontrol of bacterial pathogens in aquaculture with emphasis on phage therapy, *Diseases in Asian Aquaculture*, 535-542.
- Kayış, S., Capkin, E., Fikri, B., Altinok, I., (2009). Bacteria in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in the Southern Black Sea Region of Turkey- a survey, *Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, 61 (4): 339- 344.
- Keskin, O., Secer, S.U., Izgur, M., Turkyilmaz, S., Mkakosya, R.S., (2004). *Edwardsiella ictaluri* infection in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 28 (4): 649-653.
- Kingwell, K., (2015). Bacteriophage therapies re-enter clinical trials. *Nat Rev Drug Discov.* 14(8):515-6.
- Korun, J. (2004a). A study on diagnosis of vibriosis and pasteurellosis some diagnostic kits and laboratory methods in cultured Sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Phd. Thesis. Istanbul University.
- Korun, J., Akgün-Dar, K., Yazıcı, M., (2009). Isolation of *Shewanella putrefaciens* from cultured european sea bass, (*Dicentrarchus labrax*) in Turkey, *Revue Méd. Vet.*, 160(11), 532-536.
- Korun, J., Gökçü, M. ,(2007a). *Listonella anguillarum* isolated from hatchery-cultured Red porgy *pagrus pagrus* in Turkey, *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 6(6): 823-827.
- Korun, J., Olgac, V., Akgün-Dar, K., ColomI, A., Diamant, A., (2005). Mycobacteriosis in European Sea Bass, *Dicentrarchus labrax*, L. Cultured in Turkey, *Israeli J. Aquacult.-Bamidgeh*, 57(4), 215-222.
- Korun, J., Timur, G., (2001). Gökkuşığı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) fry mortalite sendromu (FMS) üzerine bir çalışma", *İstanbul Üniv. Su Ürünleri Dergisi*, cilt.12, ss.15-30.
- Kropinski, A.M., Mazzocco, A., Waddell, T.E., Lingohr, E., Johnson, R.P., (2009). Enumeration of Bacteriophages by Double Agar Overlay Plaque Assay, *Bacteriophages Methods and Protocols*, 501, 69-76.
- Kropinski, A.M., Mazzocco, A., Waddell, T.E., Lingohr, E., Johnson, R.P., (2009). Enumeration of Bacteriophages by Double Agar Overlay Plaque Assay, *Methods Mol Biol.*501:69-76.

- Kubilay, A., Altun, S., Diler, O., Ekici, S., (2008). Isolation of *Flavobacterium columnare* from Cultured Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Fry in Turkey, *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 8: 165-169.
- Kubilay, A., Uluköy, G., (2004). First isolation of *Staphylococcus epidermidis* from cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*) in Turkey, *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 24(3), 137-143.
- Le, T.S., Nguyen, T.H., Vo, H.P., Doan, V.C., Nguyen, H.L., Tran, M.T., Tran, T.T., Southgate, P.C., Kurtböke, D.İ., (2018). Protective Effects of Bacteriophages against *Aeromonas hydrophila* Species Causing Motile Aeromonas Septicemia (MAS) in Striped Catfish. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 7(1), 16.
- Lederberg, E. M., Lederberg, J., (1953). Genetic studies of lysogenicity in *Escherichia coli*, *Genetics*, 38(1), 51
- Letchumanan, V., Chan, K.G., Pusparajah, P., Saokaew, S., Duangjai, A., Goh, B.H, Ab Mutalib, N.S., Lee, L.H., (2016). Insights into Bacteriophage Application in Controlling Vibrio Species. *Front Microbiol.*, 7,1114.
- Li, Z., Zhang, J., Li, X., Wang, X., Cao, Z., Wang, L., Xu, Y., (2003). Efficiency of a bacteriophage in controlling vibrio infection in the juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus*, *Aquaculture*, 451,345–352.
- Lodish, H., Berk, A., Zipursk, S.L., Matsudair, P., Baltimore, D., James Darnell, J., (2000). *Molecular Cell Biology*, 4th edition, New York: W. H. Freeman; ISBN-10: 0-7167-3136-3.
- Madhusudana, R.B., Lalitha, K.V., (2015). Bacteriophages for aquaculture: are they beneficial or inimical, *Aquaculture*, 437, 146-154.
- Madsen, L., Bertelsen, S.K., Dalsgaard, I., Middelboe, M., (2013). Dispersal and survival of *Flavobacterium psychrophilum* phages in vivo in rainbow trout and *in vitro* under laboratory conditions: implications for their use in phage therapy, *Appl Environ Microbiol.*, 79(16), 4853–4861.
- Matsuoka, S., Tashizuma, T., Kanzaki, H., Iwamoto, E., (2007). Phage Therapy against β -hemolytic Streptococcosis of Japanese Flounder *Paralichthys olivaceus*, *Fish Pathology*, 42(4):181-189.
- Maturin, L., Peeler, J., (2009). Bacteriological Analytical Manual (BAM), *Bacteriological Analytical Manual Chapter 3 Aerobic Plate Count*, (Edition 8, Revision A1998).
- Matyar, F., (2007). Distribution and antimicrobial multiresistance in gram-negative bacteria isolated from Turkish sea bass (*Dicentrarchus labrax* L., 1781) farm, *Annals of Microbiology*, 57 (1): 35-38.
- Merabishvili, M., Pirnay, J.P., Verbeken, G., Chanishvili, N., Tediashvili, M., Lashkhi, N., Glonti, T., Krylov, V., Mast, J., Van Parys, L., Lavigne, R., Volckaert, G., Mattheus,

- W., Verween, G., De Corte, P., Rose, T., Jennes, S., Zizi, M., De Vos, D., Vanechoutte, M., (2009). Quality-controlled small-scale production of a well-defined bacteriophage cocktail for use in human clinical trials, *Plos One*, 4(3), e4944.
- Merino, S., Camprubi, S., Tomas, J.M., (1990). Isolation and characterization of bacteriophage PM2 from *Aeromonas hydrophila*. *FEMS Microbiol Lett* 68: 239–244.
- Middelboe, M., Chan, A.M., Bertelsen, S.K., (2010). Isolation and life cycle characterization of lytic viruses infecting heterotrophic bacteria and cyanobacteria, *Manual of aquatic viral ecology*, MAVE Chapter 13, 118–133.
- Middelboe, M., Jacquet, S., Weinbauer, M., (2008). Viruses in freshwater ecosystems: an introduction to the exploration of viruses in new aquatic habitats, *Freshwater Biology*, 53, 1069–1075.
- Miranda, C.D., Godoy, F.A., Lee, M.R., (2018). Current Status of the Use of Antibiotics and the Antimicrobial Resistance in the Chilean Salmon Farms, *Frontiers in microbiology*, 9, 1284.
- Mishra, C. K., Choi, T.J., Kang, S. C., (2012). Isolation and characterization of a bacteriophage F20 virulent to *Enterobacter aerogenes*, *Journal of Genetic Virology*, 93, 2310-2314.
- Munro, J., Oakey, J., Bromage, E., Owens, L., (2003). Experimental bacteriophage-mediated virulence in strains of *Vibrio harveyi*, *Dis. Aquat. Org.* 54:187-94.
- Nakai, T., Park, S.C., (2002). Bacteriophage therapy of infectious diseases in aquaculture, *Res. Microbio.*, 153: 13–18.
- Nakai, T., Sugimoto, R., Park, K.H., Matsuoka, S., Mori, K., Nishioka, T., Maruyama, K., (1999). Protective effects of bacteriophage on experimental *Lactococcus garvieae* infection in yellowtail, *Dis. Aquat. Organ.* 37, 33–41.
- Oakey, H.J., Owens, L., (2000). A new bacteriophage, VHML, isolated from a toxin-producing strain of *Vibrio harveyi* in tropical Australia, *J. Appl. Microbiol.* 89, 702–709.
- Onuk, E.E., Tanrıverdi Çaycı, Y., Çoban, A.Y., Çiftci, A., Balta, F., Behire Işıl Didinen, B.I., Soner, A., (2017). Balık ve yetiştirme suyu kökenli *Aeromonas* izolatlarının antimikrobiyal duyarlılıklarının saptanması. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 64, 69-73.
- Özkök, S., (2005). Gökkuşığı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) görülen önemli bakteriyel etkenlerin tespiti ve antibiyotiklere duyarlılıklarının saptanması, *Etilik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 16 (1-2):1-11.
- Parasion, S., Kwiatek, M., Gryko, R., Mizak, L., Malm, A., (2014). Bacteriophages as an alternative strategy for fighting biofilm development, *Pol. J. Microbiol.*, 63, 137–145.
- Paul, V.H., Sullivan, M.B., (2005). Marine phage genomics: what have we learned?, *Curr Opin Biotechnol.* 16(3):299-307.

- Phumkhachorn, P., Rattanachaikunsopon, P., (2010). Isolation and partial characterization of a bacteriophage infecting the shrimp pathogen *Vibrio harveyi*, *Afr. J. Microbiol. Res.*, 4, 1794–1800.
- Post, G., (1987). Enteric redmouth disease (Yersiniosis). In: *Textbook of Fish Health* (ed. by G. Post), pp. 47–51. THF Publications, Neptune City, NJ.
- Prasad, Y., Arpana, Kumar, D., Sharma AK., (2011). Lytic bacteriophages specific to *Flavobacterium columnare* rescue catfish, *Clarias batrachus* (Linn.) from columnaris disease, *Journal of Environmental Biology*, 32(2):161-8.
- Ramos, G.E., (2018). Antibiotic Prophylaxis in Burn Patients: A Review of Current Trends and Recommendations for Treatment, *Journal of Infectiology*, 1(1), 1-5.
- Reardon, S., (2014). Phage therapy gets revitalized, *Nature*, 510(7503): 15-6.
- Richards, G.P., (2014). Bacteriophage remediation of bacterial pathogens in aquaculture: a review of the technology, Bacteriophage 4, e975540 ; *Published with license by Taylor & Francis Group, LLC.*
- Rigos, G., Nengas, I., Alexis, M., Troisi, G.M., (2004). Potential drug (oxytetracycline and oxolinic acid) pollution from Mediterranean sparid fish farms, *Aquatic Toxicology*, 69 (3): 281–288.
- Rodgers, C.J., (2001). Resistance of *Yersinia ruckeri* to antimicrobial agents *in vitro*. *Aquaculture*, 196, 325-345.
- Romero, J., Gloria Feijoo, C., Navarrete, P., (2012). Antibiotics in Aquaculture –Use, Abuse and Alternatives, In: Carvalho ED, David GD, Silva RJ, editors, *Health and Environment in Aquaculture*, Rijeka, Croatia: InTech; p. 159–198.
- Rong, R., Lin, H., Wang, J., Khan, M.N., Li, M., (2014). Reductions of *Vibrio parahaemolyticus* in oysters after bacteriophage application during depuration, *Aquaculture*, 418–419, 171–176.
- Ruangpan, L., Danayadol, Y., Direkbusarakom, S., Siurairatana, A., Flegel, T.W., (1999). Lethal toxicity of *Vibrio harveyi* to cultivated *Panaeus monodon* induced by bacteriophage, *Dis. Aquat. Org.*, 35:195-201.
- Samanidou, V.F., Evaggelopoulou, E.N., (2007). Analytical strategies to determine antibiotic residues in fish, *Journal of Separation Science*, 30(16): 2549–2569.
- Sambrook, J., Russell, D. (2001). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press Cold Spring Harbor, New York, www.cshlpress.org.
- Santos, L., Ramos, F., (2018). Antimicrobial resistance in aquaculture: current knowledge and alternatives to tackle the problem, *Int. J. Antimicrob. Agents*, 52, pp. 135-143.
- Sarker, M.M.R., Rashid, M.S., Raju, A.A., Rana, M., Karim, M.F.B., Akter, R., Abu Nayem Md. Al-Noman Howlader., Ming, L.C., Ismail, N.E., (2016). Evaluation of the

pharmaceutical quality of different brands of ranitidine tablets manufactured in Bangladesh: a pharmaceutical and public health prospective, *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 6 (01), 055-061.

- Savaş, H. and Türe, M. (2007). Bölgemizde doğal ve kültürlü yapılan balıklarda görülen hastalıklar. *SUMAE Yunus Araştırma Bülteni*,7, 10-13.
- Savaş, H., Yıldırım, Y., Kurtoğlu, I.Z., Bascinar, N., Alkan, A., Gürel, M., Ergun, H., Firidin, S., Kutlu, I., Serdar, S. ve Zengin, B. (2006). Ordu ili Perşembe ilçesinde faaliyet gösteren yüzer kafes işletmelerinin çevresel etki ve su ürünleri sağlığı yönünden izlenmesi projesi, Sonuç raporu , *SUMAE*, 58pp.
- Scarano, C., Piras, F., S. Viridis, S., Ziino, G., Nuvoloni, R., Dalmaso, A., E.P.L. De Santis, E.P.L., Spanu, C., (2018). Antibiotic resistance of *Aeromonas* strains isolated from *Sparus aurata* reared in Italian mariculture farms. *International Journal of Food Microbiology*, 284, 91–9792.
- Shivu, M.M., Rajeeva, B.C., Girisha, S.K., Karunasagar, I., Krohne, G., Karunasagar, I., (2007). Molecular characterization of *Vibrio harveyi* bacteriophages isolated from aquaculture environments along the coast of India, *Environ.Microbiol.* 9, 322–331.
- Silva, Y.J., Costa, L , Pereira, C., Mateus, C., Cunha, A., Calado, R., Gomes, N.C.M., Pardo, M.A., Hernandez,I., Almeida, A., (2014). Phage Therapy as an Approach to Prevent *Vibrio anguillarum* Infections in Fish Larvae Production, *PLOS ONE* 9(12): e114197.
- Silver, L.L., (2011). Challenges of antibacterial discovery, *Clinical microbiology reviews*, 24(1), 71–109.
- Slopek, S., Durlakowa, I., Weber-Dabrowska, B., Kucharewicz-Krukowska, A., Dabrowski, M., Bisikiewicz, R., (1983). Results of bacteriophage treatment of suppurative bacterial infections. I. General evaluation of the results, *Arch. Immunol. Ther. Exp*, 31(3), 267-291.
- Slopek, S., Weber-Dabrowska, B., Dabrowski, M., Kucharewicz-Krukowska, A., (1987). Results of bacteriophage treatment of suppurative bacterial infections in the years 1981-1986. *Archivum immunologiae et therapiae experimentalis*, 35(5), 569-583.
- Smith, H.W., Huggins, M.B., (1982). Successful treatment of experimental *Escherichia coli* infections in mice using phage: its general superiority over antibiotics, *Microbiology*, 128(2), 307-318.
- Smith, H.W., Huggins, M.B., (1983). Effectiveness of phages in treating experimental *Escherichia coli* diarrhoea in calves, piglets and lambs, *Microbiology*, 129(8), 2659-2675.
- Smith, H.W., Huggins, M.B., Shaw, K.M., (1987). Factors influencing the survival and multiplication of bacteriophages in calves and in their environment, *Microbiology*, 133(5), 1127-1135.
- Smith, P., (2008). Antimicrobial resistance in aquaculture, *Rev. Sci. Tech.*;27:243–264.

- Sommerset, I., Krossøy, B., Biering, E., Frost, P., (2005). Vaccines for fish in aquaculture, *Expert Review of Vaccines.*; 4 (1): 89–101.
- Soothill, J.S., Lawrence, J.C., Ayliffe, G.A.J., (1988). The efficacy of phages in the prevention of the destruction of pig skin in vitro by *Pseudomonas aeruginosa*. *Med. Sci. Res*, 16, 1287-1288.
- Srinivasan, P., Ramasamy, P., Brennan, G.P., Hanna, R.E.B., (2007). Inhibitory effects of bacteriophages on the growth of *Vibrio* sp. pathogens of shrimp in the Indian aquaculture environment, *Asian J. Anim. Vet. Adv.*, 2, 166–183.
- Stevenson, R.M., Airdrie, D.W., (1984). Isolation of *Yersinia ruckeri* Bacteriophages, *Applied and environmental microbiology*, 47,(6) ,1201-5.
- Stroj, L., Weber-Dabrowska, B., Partyka, K., Mulczyk, M., Wojcik, M., (1999). Successful treatment with bacteriophage in purulent cerebrospinal meningitis in a newborn, *Neurologia I neurochirurgia polska*, 33(3), 693-698.
- Subasinghe, R., Soto, D., Jia, J., (2009). Global aquaculture and its role in sustainable development, *Reviews in Aquaculture*, 1(1), 2- 9.
- Sulakvelidze, A., Alavidze, Z., Morris, J.G., (2001). Bacteriophage therapy, *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 45(3), 649-659.
- Sulakvelidze, A., Kutter, E., (2004). Bacteriophage therapy in humans, *Biology and Application*, Boca Raton: CRC Press, 381-436.
- Summers, W.C., (2001). Bacteriophage therapy, *Annu Rev Microbiol.*, 55:437–45
- Şahrikoğlu, L., Candan, A., (2002). A Research on *Aeromonas hydrophila* Infection in Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*), *Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, Istanbul University, 14, 59-70.
- Şen, E., (2007). Levrek (*Dicentrarchus labrax*) balıklarında *Flexibacter maritimus* enfeksiyonu üzerine bir araştırma, *T.C. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Yüksek Lisans Tezi.
- Tan, D., Gram, L., Middelboe, M. (2014). Vibriophages and their interactions with the fish pathogen *Vibrio anguillarum*. *Applied and environmental microbiology*, 80(10), 3128–3140.
- Timur, G., Akaylı, T., (2003). First Study of Staphylococcosis in Farmed Rainbow Trout, International Symposium of Fisheries and Zoology (in memory of Ord. Prof. Dr. Curt KOSSWIG in His 100th Birth Anniversory), *Istanbul University Fisheries and Zoology Faculty*, 23-25 October, Istanbul, 67-79.
- Timur, G., Akayli, T., Korun, J., Yardimci, R.E., (2010). A study on bacterial haemorrhagic septicemia in farmed young Russian sturgeon in Turkey (*Acipenser gueldenstaedtii*). *Istanbul Universitesi Su Urunleri Dergisi*, 25 (1): 19-27.

- Timur, G., Timur M., (1991b). An outbreak of Enteric Redmouth Diseases in farmed Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey, *Bull Eur Assoc Fish Pathol*, 11 (5): 181-182.
- Timur, G., Timur, M. , Çolak, H.S., Akayli, T., (1999). Gökkuşuğu Alabalık Yavrularında Görülen Furunkulozis Hastalığı Üzerinde Bir Çalışma, *İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Su Ürünleri Dergisi*, ss.461-467.
- Timur, G., Timur, M., Akaylı, T., Korun, J., Thompson, K.D., (2005). First Observation of Rickettsia-Like Organisms in Cultured Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) in Turkey, *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 25(5), 196-202.
- Timur, G., Ürkü, Ç., Çanak, Ö., Erköse Genç, G., Erturan, Z., (2015). Systemic Mycobacteriosis Caused by Mycobacterium marinum in Farmed Meagre (*Argyrosomus regius*), in Turkey, *Israeli Journal Of Aquaculture-Bamidgeh*, vol.67.
- Topal, M., Uslu Şenel, Arslan Topal, E.I., Öbek, E., (2015). Antibiyotikler ve kullanım alanları, *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 31(3).
- Turgay E., Karataş Steinum S., (2016). First Report of *Vibrio harveyi* Infection in Diseased Common Dentex (*Dentex dentex*) Cultured in Turkey, *Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 12:170-176.
- Turgay, E., Karataş Steinum, S., Candan, A., (2015). Kültürü Yapılan Gökkuşuğu Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) *Staphylococcus hominis subsp. hominis* Enfeksiyonu, *Istanbul University Journal of Fisheries & Aquatic Sciences*, cilt.30, no.1, ss.11-22.
- Turgay, E., Karataş, S., Candan, A., (2010). A Research On The Staphylococcal Infections In Cultured Fish Species, *15th International Conference on Diseases of Fish and Shellfish*, HRVATISTAN.
- TÜİK , (2018). *Su Ürünleri İstatistikleri*, <http://www.tuik.gov.tr/Start.do>.
- Türel, M., (2002). Su Ürünleri Yetiştiricilik Alt Sektöründe Planlama, *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*.
- Türk, N., (2002). Çipura (*Sparus aurata*) ve levrek (*Dicentrarchus labrax*) yavrularından bakteri izolasyonu ve antibiyotiklere duyarlılıklarının belirlenmesi, *Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 27: 7-14. -16.
- Türkiye Bilimler Akademisi (TÜBA), (2017). Tüba-İnsan ve Hayvan Sağlığında Akılcı Antibiyotik, *Türkiye Bilimler Akademisi Yayınları*, TÜBA Raporları No: 21, ISBN: 978-9944-252-89-8.
- Twort, F.W., (1915). An investigation on the nature of ultra-microscopic viruses, *The Lancet*, 186(4814), 1241-1243.
- Ustaçelebi, Ş., Okuyan, M., Odabaşıoğlu, N., (1968). T4 R mutant bakteriyofajları ile serolojik deneyler ve normal insan serumlarının faj enfeksiyonunda stimulan etkisi, *Mikrobiyoloji Bülteni*, 4, 131-141.

- Ürkü, Ç., Erkose Genc, G., Wittwer, F., Erturan, Z., Pfyffer, G., (2018), Mycobacteriosis in Farmed Sea Bream (*Sparus aurata*) Caused by *Mycobacterium frederiksbergense* in Turkey, *Acta Veterinaria-Beograd*, 68:391-400.
- Van Twest, R., Kropinski, A., (2009). Bacteriophage Enrichment from Water and Soil, *Methods in Molecular Biology*, 501,15-21.
- Vinod, M.G., Shivu, M.M., Umesha, K.R., Rajeeva, B.C., Krohne, G., Karunasagar, I., (2006). Isolation of *Vibrio harveyi* bacteriophage with a potential for biocontrol of luminous vibriosis in hatchery environments, *Aquaculture* 255, 117–124.
- Weber-Dąbrowska, B., Jończyk-Matysiak, E., Żaczek, M., Łobocka, M., Łusiak-Szelachowska, M., Górski, A., (2016). Bacteriophage Procurement for Therapeutic Purposes, *Front Microbiol.*, 12;7:1177.
- WHO, (2014). Antimicrobial Resistance Global Report on Surveillance, *World Health Organization, Geneva*, p. 257. ISBN: 9789241564748.
- WHO, (2017). Implementation Of The Global Action Plan On Antimicrobial Resistance, *World Health Organization, Who gap amr Newsletter No.32*.
- Wise, D.J., Johnso, M.R., (1998). Effect of Feeding Frequency and Romet-Medicated Feed on Survival, Antibody Response, and Weight Gain of Fingerling Channel Catfish *Ictalurus punctatus* after Natural Exposure to *Edwardsiella ictaluri*, *Journal Of The World Aquaculture Society*, 29(2).
- Wu, J.L., Lin, H.M., Jan, L., Hsu, Y.L., Chang, L.H., (1981). Biological control of fish pathogen, *Aeromonas hydrophila*, by bacteriophage AH1, *Fish Pathol.*, 15: 271–276.
- Xu, Z., (2016). Chapter 2: Isolation, Characterisation and Application of Bacteriophages in Aquaculture, *Institute of Aquaculture School of Natural Sciences University of Stirling, Scotland, UK*, A thesis submitted to the University of Stirling for the degree of Doctor of Philosophy.
- Yardimci, R.E., Timur, G., (2015). Isolation and Identification of *Tenacibaculum maritimum*, the Causative Agent of Tenacibaculosis in Farmed Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) on the Aegean Sea Coast of Turkey, *Israeli Journal Of Aquaculture-Bamidgeh*, vol.67.
- Yıldırım, S., Özer, S., (2010). Mersin ili Çağlarca köyündeki gökkuşağı alabalığı (*Onchorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792) kuluçkahanelerinde *Flavobacterium* spp. varlığı, *Journal of Fisheries Sciences.com*, 4(1):112-122.
- Yıldızlı, G. (2015). Balık patojeni bazı *Vibrio* bakteriyofajlarının izolasyonu ve karakterizasyonu, *Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Yüksek Lisans Tezi.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Fatma
Doğum Yeri	KARAÇOBAN
Doğum Tarihi	25.06.1989
Uyruğu	<input checked="" type="checkbox"/> T.C. <input type="checkbox"/> Diğer:
Telefon	0539 684 9847
E-Posta Adresi	Fatma.karacbn@gmail.com
Web Adresi	



Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Fakülte	Su Ürünleri Fakltesi
Bölümü	Su Ürünleri Mühendisliği
Mezuniyet Yılı	28.08.2015

Yüksek Lisans	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Su Ürünleri Yetiştiriciliği ve Hastalıkları
Programı	Su Ürünleri Hastalıkları Programı